

Necdin による GnRH ニューロンの発達制御

大阪大学蛋白質研究所
吉川 和明

はじめに

Necdin は、ニューロンの分化促進と生存維持に働く多機能性蛋白質である [1, 2]. ヒト Necdin 遺伝子 (NDN) は染色体 15q11-q12 領域に存在し、ゲノムインプリンティングによって父性染色体のみから発現している。この領域が父由来染色体で欠損すると神経発達異常症であるプラダー・ウィリー症候群 (Prader-Willi syndrome, PWS) が発症する。PWS は、過食による肥満、低身長、性腺発達異常を主症状とする。また、PWS では成長ホルモンや性腺刺激ホルモンの分泌不全がみられる。これらの症状は、視床下部ニューロンの発達異常に基づくものと推定されている。

Necdin が PWS の病因に関わる可能性を検討するため、父性 Necdin 遺伝子 (Ndn) 変異マウスを用いた研究が行われている。これらのモデルマウスでの解析の結果、Necdin は性腺刺激ホルモン放出ホルモン (gonadotropin-releasing hormone, GnRH; 別名 luteinizing hormone-releasing hormone, LH-RH) を分泌するニューロンの分化や移動に関与していることが明らかになってきた。ここでは、Necdin と GnRH ニューロンの発達の関連についての話題を紹介する。

GnRH ニューロンでの Necdin の発現

GnRH は 10 アミノ酸残基からなるペプチドで、視床下部のニューロンで産生され、下垂体前葉での性腺刺激ホルモンの合成と放出を刺激する。GnRH ニューロンは、発生初期に嗅上皮から発生し、鼻部と前脳部の境界にある篩板を通過して、視床下部に到達する。移動を終えた GnRH ニューロンは正中隆起に軸索を伸ばし、その神経終末から下垂体門脈に GnRH をパルス状に放出する [3].

GnRH ニューロンの分化と移動の異常による性腺刺激ホルモンの分泌異常は、低ゴナドトロピン性性腺機能低下症 (hypogonadotropic hypogonadism, HH) の原因の 1 つであり、HH が無嗅覚症と合併した場合はカルマン症候群 (Kallmann syndrome, KS) として知られている。GnRH ニューロンの移動に関わる KS 関連遺伝子として

KAL1 や FGFR1 などが報告されている [4].

Necdin は神経前駆細胞から分化した直後の分裂終了ニューロンに発現している [5]. 発生初期には、嗅上皮内および鼻部と前脳の間にある細胞に強い発現がみられる (図 1). Necdin 発現細胞は、分化直後および前脳に向かって移動中の GnRH ニューロンに一致する。GnRH ニューロンの *in vitro* での解析には、SV40 large T 抗原を GnRH 遺伝子プロモーターの制御下で発現させた GnRH ニューロン由来の株化細胞が用いられる。これらの株化細胞の中で、GnRH を分泌する成熟型 GT1-7 細胞は Necdin を発現しているが、未成熟型 GN11 細胞では Necdin の発現が認められない [6]. このことは、GnRH ニューロンの成熟過程に Necdin が関与することを示唆する。

NSCL-Necdin-Msx/Dlx 経路による GnRH ニューロンの発達

性機能の発達に重要な働きをする転写因子として NSCL-1 (別名 Nhlh1, Hen1) と NSCL-2 (別名 Nhlh2, Hen2) が知られている。NSCL-2 (Nhlh2) 変異マウスでは、性腺発達障害によって不妊になるが、成長後の視床下部で GnRH ニューロン数の減少がみられ

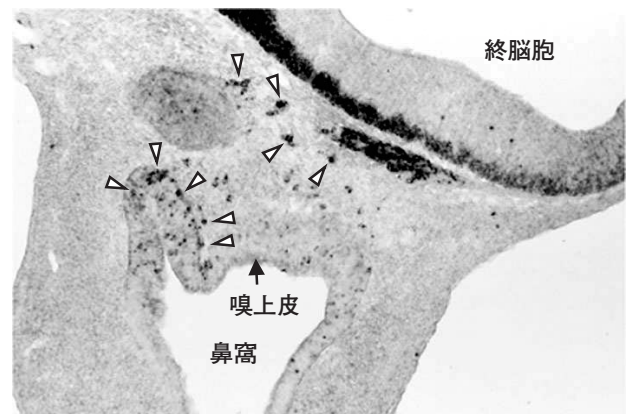


図 1 マウス胎児における Necdin の発現
マウス胎生 11.5 日の鼻部と前脳領域の Necdin mRNA を *in situ* ハイブリッド組織化学法によって検出した。Necdin mRNA を発現している細胞 (矢頭) は、GnRH ニューロンと推定される (高城啓一, 吉川和明: 未発表)。

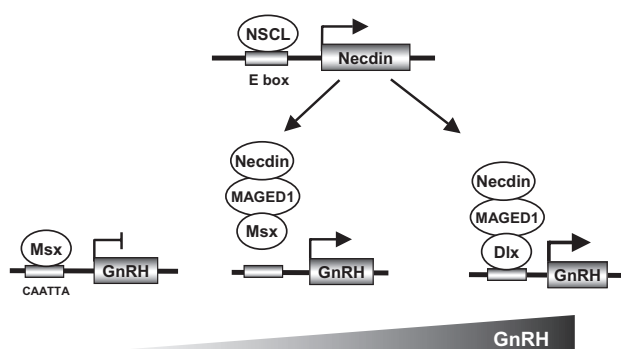


図2 Necdin を介する GnRH 遺伝子の発現機構
Necdin 遺伝子の発現は転写因子 NSCL によって促進される。
Necdin は、MAGED1 を介して Msx および Dlx と複合体を形成し、
GnRH 遺伝子の発現を活性化する (本文参照)。

る [7]。一方、NSCL-1/NSCL-2 二重変異マウスは、新生児致死になるが、胎児の視床下部では GnRH ニューロン数の減少がみられる [7]。また、これらのマウスの視床下部では、Necdin mRNA の発現量が著しく減少している。したがって、NSCL は、Necdin の発現を増加させることによって、GnRH ニューロンの分化を促進する可能性がある。

Necdin が、GnRH 遺伝子の転写を促進する機構も明らかになってきた (図2)。NSCL は Necdin 遺伝子の 5' 上流領域に存在する配列 (E-box) に結合して Necdin の発現を増強する [7]。NSCL によって誘導された Necdin は、同じ MAGE ファミリーに属する MAGED1 を介してホメオドメイン転写因子である Msx と Dlx と結合し、Msx の転写抑制作用に拮抗し、Dlx の転写活性化作用を増強する [8, 9]。Msx および Dlx は、GnRH 遺伝子の発現にも関与している [10]。GnRH 遺伝子の制御領域には 4 個のホメオドメイン結合配列 (CAATTA) が存在し、Msx は抑制的に、Dlx は促進的に働く。また、GnRH ニューロンの移動に関しても Msx は抑制的、Dlx は促進的に作用する。未分化状態の GnRH ニューロンを反映する GN11細胞において、Necdin は Msx の GnRH 遺伝子転写抑制作用に拮抗する [6]。また、分化状態の GnRH ニューロンを反映する GT1-7細胞に発現している内在性 Necdin を低下させると、GnRH 遺伝子の発現が抑えられる。したがって、GnRH ニューロンにおいて、Necdin は Msx/Dlx を介して GnRH 遺伝子の発現や GnRH ニューロンの移動を制御するものと推定される。

Necdin 遺伝子変異マウスにおける GnRH ニューロンの異常

PWS のモデル系として、数系統の父性 Ndn 変異マウス (Ndn KO マウス) が樹立されている。Ndn KO マウス (近交系 C57BL/6) のほとんどは新生児期致死になるため、成長後の生殖能力や性行動を調べることはできない。しかし、Ndn KO マウスのうち、新生児期を生き延びた個体では、成長後に視床下部 GnRH ニューロン数の減少が認められる [11]。Ndn KO マウスの胎児では、視床下部への GnRH ニューロンの移動遅延と細胞数減少が認められる [6]。また、GnRH ニューロンの正中隆起への軸索投射も著しく減少しているため、GnRH ニューロンの機能不全が推定される。

NSCL は GnRH ニューロンだけでなく、視床下部のエネルギー代謝や食欲に関する神経核の発達にも関与することが示されている [12]。したがって、NSCL によって転写制御を受ける Necdin は、GnRH ニューロン以外にもエネルギー代謝や食欲制御に関与する視床下部ニューロンの発達に関与している可能性もある。

おわりに

最近の Ndn KO マウスを用いた研究で、Necdin が GnRH ニューロンの分化や移動に重要な働きをすることが示された。PWS 領域には NDN 以外にもインプリントを受ける複数の遺伝子があり、それらの遺伝子が協調的に働いて、GnRH ニューロンの発達を促す可能性もある。しかし、単独遺伝子の欠損によって GnRH ニューロンに異常を起こすことが報告されているものは、現在のところ Necdin だけである。したがって、GnRH ニューロンの分化や移動には Necdin の寄与が大きいものと予想される。一方、実際に PWS にみられる HH に Necdin が関与しているかについては現時点では不明である。今後、HH あるいは GnRH 異常がある症例で Necdin 遺伝子の変異がみつかり、GnRH ニューロン発達への Necdin の関与がより明確になるものと期待される。

謝辞

本稿の執筆を薦めていただいた国立成育医療センター緒方勲先生に深謝いたします。また、Necdin に関する研究に協力いただいた共同研究者に感謝します。

引用文献

1. Kuwako K, Hosokawa A, Nishimura I, Uetsuki T, Yamada M, Nada S, Okada M, Yoshikawa K (2005) Disruption of the paternal necdin gene diminishes TrkA signaling for sensory neuron survival. *J Neurosci* 25, 7090-7099.
2. Hasegawa K, Yoshikawa K (2008) Necdin regulates p53 acetylation via Sirtuin1 to modulate DNA damage response in cortical neurons. *J Neurosci* 28, 8772-8784.
3. Cariboni A, Maggi R, Parnavelas JG (2007) From nose to fertility: the long migratory journey of gonadotropin-releasing hormone neurons. *Trends Neurosci* 30, 638-644.
4. Kim HG, Bhagavath B, Layman LC (2008) Clinical manifestations of impaired GnRH neuron development and function. *Neurosignals* 16, 165-182.
5. Uetsuki T, Takagi K, Sugiura H, Yoshikawa K (1996) Structure and expression of the mouse necdin gene. Identification of a postmitotic neuron-restrictive core promoter. *J Biol Chem* 271, 918-924.
6. Miller NL, Wevrick R, Mellon PL (2009) Necdin, a Prader-Willi syndrome candidate gene, regulates gonadotropin-releasing hormone neurons during development. *Hum Mol Genet* 18, 248-260.
7. Kruger M, Ruschke K, Braun T (2004) NSCL-1 and NSCL-2 synergistically determine the fate of GnRH-1 neurons and control necdin gene expression. *EMBO J* 23, 4353-4364.
8. Kuwajima T, Taniura H, Nishimura I, Yoshikawa K (2004) Necdin interacts with the Msx2 homeodomain protein via MAGE-D1 to promote myogenic differentiation of C2C12 cells. *J Biol Chem* 279, 40484-40493.
9. Kuwajima T, Nishimura I, Yoshikawa K (2006) Necdin promotes GABAergic neuron differentiation in cooperation with Dlx homeodomain proteins. *J Neurosci* 26, 5383-5392.
10. Givens ML, Rave-Harel N, Goonewardena VD, Kurotani R, Berdy SE, Swan CH, Rubenstein JL, Robert B, Mellon PL (2005) Developmental regulation of gonadotropin-releasing hormone gene expression by the MSX and DLX homeodomain protein families. *J Biol Chem* 280, 19156-19165.
11. Muscatelli F, Abrous DN, Massacrier A, Boccaccio I, Le Moal M, Cau P, Cremer H (2000) Disruption of the mouse Necdin gene results in hypothalamic and behavioral alterations reminiscent of the human Prader-Willi syndrome. *Hum Mol Genet* 9, 3101-3110.
12. Vella KR, Burnside AS, Brennan KM, Good DJ (2007) Expression of the hypothalamic transcription factor Nhlh2 is dependent on energy availability. *J Neuroendocrinol* 19, 499-510.