

領域略称名：脳構築の時計と場  
領域番号：3803

平成28年度～令和2年度

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）

「新学術領域研究（研究領域提案型）」

研究成果報告書

「脳構築における発生時計と場の連携」

令和5年6月

領域代表者 影山 龍一郎

国立研究開発法人理化学研究所・

脳神経科学研究センター・センター長

## はしがき

なぜ発生過程は決まったタイミングで自律的に進むのかという永年の問いに対する明確な答えは無かった。例外の一つが、体節形成を制御する分節時計であった。これは **Hes7** 遺伝子がネガティブフィードバックによって自律的に発現リズムを刻むことによるが、この時間制御機構が普遍化されるかどうかは不明であった。例えば、神経幹細胞は決まったスケジュールで性質を変えて多様な細胞を生み出すため、タイミングを計る時計を持つと考えられるが、経時的に変化する細胞外環境（場）からのフィードバックも受ける。従って、神経幹細胞に内在する発生時計と場の連携が脳発生の進行に重要であるが、詳細は不明であった。一般的に、ドミノ倒しのようにある現象が次の現象を誘導することで発生は進行すると考えられてきたが（ドミノ説）、ドミノ説では説明できない現象も示された。さらに、**Hes7** と同じファミリーに属する **Hes1** の発現が神経幹細胞で自律的にリズムを刻むことが明らかにされ、神経幹細胞にも時計遺伝子の存在が示唆された。さらに、ドミノ式制御の実行因子や正しいタイミングを計るタイムキーパー因子、および場からのフィードバックの実行因子が同定され、発生時間の制御機構の解明に向けた研究が進んできた。そこで、本領域では、候補因子や **ES** 細胞培養系といった解析手法がそろっている脳を中心に、同様のシステムを共有していると考えられる他の臓器も含めた発生の時間制御機構の解明を目指し、大きな成果を挙げた。

## 研究組織

### 1 計画研究

領域代表者 影山 龍一郎（国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・センター長）

#### （総括班）

研究代表者 影山 龍一郎（国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・センター長）

研究分担者 見学 美根子（京都大学・高等研究院・教授）

研究分担者 安達 泰治（京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・教授）

研究分担者 永樂 元次（京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・教授）

研究分担者 後藤 由季子（東京大学・大学院薬学系研究科（薬学部）・教授）

研究分担者 花嶋 かりな（早稲田大学・教育・総合科学学術院・准教授）

研究分担者 仲嶋 一範（慶應義塾大学・医学部（信濃町）・教授）

研究分担者 松田 知己（大阪大学・産業科学研究所・准教授）

#### （国際活動支援班）

研究代表者 影山 龍一郎（国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・センター長）

研究分担者 仲嶋 一範（慶應義塾大学・医学部（信濃町）・教授）

研究分担者 見学 美根子（京都大学・高等研究院・教授）

#### （A01 班）

研究代表者 影山 龍一郎（京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・教授）

研究代表者 後藤 由季子（東京大学・大学院薬学系研究科（薬学部）・教授）

#### （A02 班）

研究代表者 仲嶋 一範（慶應義塾大学・医学部（信濃町）・教授）

研究代表者 見学 美根子（京都大学・高等研究院・教授）

研究代表者 花嶋 かりな（早稲田大学・教育・総合科学学術院・准教授）

#### （A03 班）

研究代表者 永樂 元次（京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・教授）

研究代表者 松田 知己（大阪大学・産業科学研究所・准教授）

研究代表者 安達 泰治（京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・教授）

研究分担者 亀尾 佳貴（京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・教授）

## 2 公募研究

研究項目[1]	課題番号 研究課題名	研究期間	研究代表者 氏名	所属研究機関・部局・職	人数 [2]
A01 公	17H05780 Nuclear lamina targeting is a timing mechanism for dendrite outgrowth	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	エイドリアン ムーア	理化学研究所 脳科学総合研究センター・チームリーダー	1
A01 公	17H05761 「均一・ゴマシオ・振動」と変化する Notch ダイナミクスの役割	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	佐藤 純	金沢大学・新学術創成研究機構・教授	1
A01 公	17H05764 特定の体節数で後肢形成が開始される機構の解明	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	鈴木 孝幸	名古屋大学・理学研究科・講師	1
A01 公	17H05782 シグナルによる発生時計の制御とその意義	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	高田 慎治	自然科学研究機構・岡崎統合バイオサイエンスセンター・教授	1
A01 公	17H05770 パルス回数を時間情報に変換する機構の解明	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	堀川 一樹	徳島大学大学院 医歯薬学研究部・教授	1
A01 公	17H05783 初期胚細胞の運命決定における転写を介した時間制御機構の解明	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	松尾 勲	大阪母子医療センター・部長	1
A01 公	17H05779 複雑脳形成における多様な幹細胞の特質の経時的变化の解析	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	松崎 文雄	理化学研究所・多細胞システム形成研究センター・チームリーダー	1
A01 公	17H05777 体節時計をモデルとしたマウスとヒトの時間スケール種差を生み出す原理の解明	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	松田 充弘	理化学研究所・多細胞システム形成研究センター・研究員	1
A01 公	17H05760 ヒト・マウス iPS を用いた網膜発生時間制御のヒストンメチル化による制御機構の解析	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	渡邊 すみ子	東京大学・医科学研究所・教授	1
A02 公	17H05766 栄養バランスの変化に応じて発生タイミングを調整する適応能力の解明	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	上村 匡	京都大学・生命科学研究所・教授	1
A02 公	17H05773 神経回路構築におけるアクチン足場蛋白質の選択的スプライシングの時空間制御機構	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	生沼 泉	兵庫県立大学・生命理学科・教授	1
A02 公	17H05765 Outer radial glia 誕生がもたらす神経幹細胞の場と時間特性の変化	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	川口 綾乃	名古屋大学・医学系研究科・准教授	1

A02 公	17H05759 脳発生をコントロールする細胞環境としてのリゾフォスファチジン酸シグナルの役割解析	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	眞田 佳門	東京大学・理学系研究科・准教授	1
A02 公	17H05769 YAP メカノホメオスタシスによるほ乳類脳の 3 次元構築メカニズムの解明	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	清木 誠	山口大学・医学系研究科・教授	1
A02 公	17H05774 白質内オリゴデンドロサイトにみられるパターン形成とその起源	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	田中 達英	奈良医科大学・医学部・講師	1
A02 公	17H05778 グリア細胞による神経幹細胞の増殖開始時期の調節	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	西村 隆史	理化学研究所・多細胞システム形成研究センター・チームリーダー	1
A02 公	17H05771 種特異的な「神経幹細胞の増殖期」の時計制御のしくみ	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	畠山 淳	熊本大学・発生医学研究所・助教	1
A02 公	17H05767 細胞外環境との連携による染色体高次構造の変動を介した脳発生の制御	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	藤田 幸	大阪大学・医学系研究科・助教	1
A02 公	17H05768 ゼブラフィッシュ側線器官形成における細胞相互作用を利用した時間制御機構	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	別所 康全	奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス領域・教授	1
A02 公	17H05775 GABA 細胞発生時計による遺伝子「量」制御と皮質層との連携と構築	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	三好 悟一	東京女子医科大学・医学部・助教	1
A03 公	17H05762 発生組織における時計の時空間動態: 分節時計再同期の数理モデリング	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	瓜生 耕一郎	金沢大学・理工研究域・助教	1
A03 公	17H05758 発生過程をつかさどる階層縦断的な時間スケール制御機構の理論的解明	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	畠山 哲央	東京大学・総合文化研究科・助教	1
A03 公	17H05776 発生時計を利用した神経細胞「誕生日」の意味づけ	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	平田 たつみ	情報・システム研究機構・国立遺伝学研究所・教授	1
A01 公	19H04768 エネルギー代謝経路による分子時計周期長制御機構の解明	令和元年度 ～ 令和 2 年度	荻沼 政之	群馬大学・生体調節研究所・助教	1

A01 公	19H04771 細胞内輸送によるNotchシグナルの時間的制御と神経幹細胞の運命決定の分子機構	令和元年度 ～ 令和2年度	佐藤 純	金沢大学・教授	1
A01 公	19H04774 生命時間と場を連携する細胞内在性のスプライシング時計による脳サイズ制御	令和元年度 ～ 令和2年度	森 雅樹	滋賀医科大学	1
A01 公	19H04781 種特異的な発生時計が制御する器官サイズとパターン保存性のメカニズムの解析	令和元年度 ～ 令和2年度	笹井 紀明	奈良先端科技大・准教授	1
A01 公	19H04787 時系列特異的なニューロンサブタイプ分化を制御する転写因子群	令和元年度 ～ 令和2年度	島崎 琢也	慶應義塾大学・医学部・准教授	1
A01 公	19H04791 神経幹細胞の上皮構造再生能の経時変化メカニズムと複雑脳形成における役割	令和元年度 ～ 令和2年度	松崎 文雄	国立研究開発法人理化学研究所	1
A01 公	19H04798 時間的に制御された未分化細胞の運命決定機構の解明	令和元年度 ～ 令和2年度	松尾 勲	大阪府立母子医療セ	1
A02 公	19H04769 大脳新皮質における神経前駆細胞の運命制御を司る脳外環境因子の役割解析	令和元年度 ～ 令和2年度	眞田 佳門	東京大学・理学系・准教授	1
A02 公	19H04773 場の変化が明らかにする神経前駆細胞の時間個性獲得の機構	令和元年度 ～ 令和2年度	川口 綾乃	名古屋大学・医学系研・准教授	1
A02 公	19H04775 腸の蠕動運動に潜む時計機能の成立メカニズム	令和元年度 ～ 令和2年度	高橋 淑子	京都大学・理学系・教授	1
A02 公	19H04776 脳回路構築における軸索配線原理の解読	令和元年度 ～ 令和2年度	本田 直樹	京都大学・生命科学研究科・准教授	1
A02 公	19H04778 細胞と場の連携による着床前マウス胚の2段階細胞分化機構	令和元年度 ～ 令和2年度	佐々木 洋	大阪大学・生命機能研究科・教授	1
A02 公	19H04779 細胞外環境との連携による染色体高次構造の変動を介した脳発生の制御	令和元年度 ～ 令和2年度	藤田 幸	大阪大学・医学系研・准教授	1

A02 公	19H04782 ゼブラフィッシュ側線器官形成における細胞相互作用を利用した時間制御機構	令和元年度 ～ 令和2年度	別所 康全	奈良先端科学技術大学院大学・教授	1
A02 公	19H04783 YAP-メカノホメオスターシスによる脳構築の場と発生時計連携メカニズムの解明	令和元年度 ～ 令和2年度	清木 誠	山口大学・医学系研・教授	1
A02 公	19H04784 種特異的な「神経幹細胞の増殖期」の時計制御のしくみ	令和元年度 ～ 令和2年度	畠山 淳	熊本大学・助教	1
A02 公	19H04785 生後の脳内を移動する新生ニューロンの発生時計を止める微小環境	令和元年度 ～ 令和2年度	澤本 和延	名古屋市立大学・医学系研・教授	1
A02 公	19H04786 アクチン足場の選択的スプライシングの時空間ダイナミクスが担う軸索誘導の新概念	令和元年度 ～ 令和2年度	生沼 泉	兵庫県立大学・生命理学・教授	1
A02 公	19H04789 皮質細胞の移動方向と連携した発生時計による分子制御機構の解明	令和元年度 ～ 令和2年度	三好 悟一	東京女子医科大学・医学部・講師	1
A02 公	19H04793 Transcriptional controls link neuron gro	令和元年度 ～ 令和2年度	Moore Adrian	国立研究開発法人理化学研究所	1
A02 公	19H04795 脳構築におけるサブプレート層の機能解明	令和元年度 ～ 令和2年度	丸山 千秋	公益財団法人東京都医学総合研究所	1
A02 公	19H04797 体節形成における分節時計と空間情報の相互作用の解析	令和元年度 ～ 令和2年度	高田 慎治	自然科学研究機構・教授	1
A03 公	19H04772 組織変形のもとでの発生時計の同期過程	令和元年度 ～ 令和2年度	瓜生 耕一郎	金沢大学・助教	1
A03 公	19H04777 脳発生の数理モデリング：細胞分化・増殖の時間制御から空間構築への変換機構の解明	令和元年度 ～ 令和2年度	奥田 覚	京都大学・再生医科学研究所	1
A03 公	19H04780 ニューロンの四つの移動モードの数理・計算モデルの開発	令和元年度 ～ 令和2年度	今井 陽介	神戸大学・工学系研・教授	1
公募研究 計 48 件 (廃止を含む)					

[1] 総：総括班、国：国際活動支援班、計：総括班以外の計画研究、公：公募研究

[2] 研究代表者及び研究分担者の人数（辞退又は削除した者を除く。）

**交付決定額**

年度	合計	直接経費	間接経費
平成 28 年度	264,420,000 円	203,400,000 円	61,020,000 円
平成 29 年度	317,850,000 円	244,500,000 円	73,350,000 円
平成 30 年度	317,980,000 円	244,600,000 円	73,380,000 円
令和元年度	318,110,000 円	244,700,000 円	73,410,000 円
令和 2 年度	317,980,000 円	244,600,000 円	73,380,000 円
合計	1,536,340,000 円	1,181,800,000 円	354,540,000 円



## 研究発表

### 主な雑誌論文

- \*Miyoshi G, Ueta Y, Natsubori A, Hiraga K, Osaki H, Yagasaki Y, Kishi Y, Yanagawa Y, Fishell G, Machold R, Miyata M. (2021) FoxG1 regulates the formation of cortical GABAergic circuit during an early postnatal critical period for autism spectrum disorder-like phenotypes. **Nat. Commun.** 12, 3773.
- Yuizumi N, Harada Y, Kuniya T, Sunabori T, Koike M, Wakabayashi M, Ishihama Y, Suzuki Y, \*Kawaguchi D, \*Gotoh Y. (2021) Maintenance of neural stem - progenitor cells by the lysosomal biosynthesis regulators TFEB and TFE3 in the embryonic mouse telencephalon. **Stem Cells** 39, 929-944.
- Yoshinaga S, Shin M, Kitazawa A, Ishii K, Tanuma M, Kasai A, Hashimoto H, \*Kubo K, \*Nakajima K. (2021) Comprehensive characterization of migration profiles of murine cerebral cortical neurons during development using FlashTag labeling. **iScience** 24 (4), Article 102277.
- Takeda H, Kameo Y, Yamaguchi T, Nakajima K, \*Adachi T. (2021) Cerebellar Foliation via Non-Uniform Cell Accumulation Caused by Fiber-Guided Migration of Granular Cells, **J. Biomech. Sci. Eng.**, 16(1), #20-00516.
- Wang M, Han X, Liu C, Takayama R, Yasugi T, Ei S, Nagayama M, Tanaka Y, \*Sato M. (2021) Intracellular trafficking of Notch orchestrates temporal dynamics of Notch activity in the fly brain. **Nat. Commun.** 12, 2083.
- \*Uriu K, Liao BK, Oates AC, Morelli LG. (2021) From local resynchronization to global pattern recovery in the zebrafish segmentation clock. **Elife** 10, e61358.
- Mii Y, Nakazato K, Pack C-G, Ikeda T, Sako Y, Mochizuki A, Taira M, Takada S. (2021) Quantitative analyses reveal extracellular dynamics of Wnt ligands in *Xenopus* embryos. **Elife** 10:e55108.
- Nakajima C, Sawada M, Sawamoto K. (2021) Postnatal neuronal migration in health and disease. **Curr. Opin. Neurobiol.** 66: 1-9.
- Matsuda M, Hayashi H, Garcia-Ojalvo J, Yoshioka-Kobayashi K, Kageyama R, Yamanaka Y, Ikeya M, Toguchida J, Alev C, \*Ebisuya M. (2020) Species-specific segmentation clock periods are due to differential biochemical reaction speeds. **Science** 369, 1450-1455.
- Oginuma M, Harima Y, Tarazona OA, Diaz-Cuadros M, Michaut A, Ishitani T, Xiong F, \*Pourquié O. (2020) Intracellular pH controls WNT downstream of glycolysis in amniote embryos **Nature** 584, 98– 101.
- Yoshioka-Kobayashi K, Matsumiya M, Niino Y, Isomura A, Kori H, Miyawaki A, \*Kageyama R. (2020) Coupling delay controls synchronized oscillation in the segmentation clock. **Nature** 580, 119-123.
- Matsuda M, Yamanaka Y, Uemura M, Osawa M, Saito MK, Nagahashi A, Nishio M, Guo L, Ikegawa S, Sakurai S, Kihara S, Maurissen TL, Nakamura M, Matsumoto T, Yoshitomi H, Ikeya M, Kawakami N, Yamamoto T, Woltjen K, \*Ebisuya M, Toguchida J, \*Alev C. (2020) Recapitulating the human segmentation clock with pluripotent stem cells. **Nature** 580, 124-129.
- Kumar D, Koyanagi I, Carrier-Ruiz A, Vergara P, Srinivasan S, Sugaya Y, Kasuya M, Yu TS, Vogt KE, Muratani M, Ohnishi T, Singh S, Teixeira CM, Chérasse Y, Naoi T, Wang SH, Nondhalee P, Osman BAH, Kaneko N, Sawamoto K, Kernie SG, Sakurai T, McHugh TJ, Kano M, Yanagisawa M, \*Sakaguchi M. (2020) Sparse Activity of Hippocampal Adult-Born Neurons during REM Sleep Is Necessary for Memory Consolidation. **Neuron** 107: 552-565.e10.
- Yoong LF, Lim HK, Tran H, Lackner S, Zheng Z, Hong P, \*Moore AW (2020) Atypical myosin tunes dendrite arbor subdivision. **Neuron** 106, 452-467.
- Fujita I†, Shitamukai A†, Kusumoto F†, Mase S, Suetsugu T, Kato K, Abe T, Shioi G, Konno D, \*Matsuzaki F. †equal contribution. (2020) Structural plasticity of neural stem cells in mammalian brain development. **Nat. Cell Biol.** 22(1):26-37.
- Eto H, \*Kishi Y, Yakushiji-Kaminatsu N, Sugishita H, Utsunomiya S, Koseki H, \*Gotoh Y. (2020) The Polycomb group protein Ring1 regulates dorsoventral patterning of the mouse telencephalon. **Nat. Comm.** 11, 5709.
- Liu C, Trush O, Han X, Wang M, Takayama R, Yasugi T, Hayashi T, \*Sato M. (2020) Dscam1 establishes the columnar units through lineage-dependent repulsion between sister neurons in the fly brain. **Nat. Commun.** 11, 4067.
- \*Hattori Y, Kawaguchi A (7/8), et al. (2020) Transient microglial absence assists postmigratory cortical neurons in proper differentiation. **Nat. Commun.** 11, 1631.

- Seymour PA, Collin CA, Egeskov-Madsen AR, Jørgensen MC, Shimojo H, Imayoshi I, de Lichtenberg KH, Kopan R, Kageyama R, \*Serup P. (2020) Jag1 modulates an oscillatory Dll1-Notch-Hes1 signaling module to coordinate growth and fate of pancreatic progenitors. **Dev. Cell** 52(6), 731-747.
- Han X, Wang M, Liu C, Trush O, Takayama R, Akiyama T, Naito T, Tomomizu T, Imamura K, \*Sato M. (2020) DWnt4 and DWnt10 regulate morphogenesis and arrangement of the columnar structures through Fz2/PCP signaling in the *Drosophila* medulla. **Cell Rep.** 33, 108305.
- Ueda Y, Kimura-Yoshida C, Mochida K, Tsume M, Kameo Y, Adachi T, Lefebvre O, Hiramatsu R, \*Matsuo I. (2020) Intrauterine Pressures Adjusted by Reichert's Membrane Are Crucial for Early Mouse Morphogenesis. **Cell Rep.** 31(7), #107637.
- Nomura T, Ohtaka-Maruyama C, Kiyonari H, Gotoh H, Ono K. (2020) Changes in Wnt-dependent neuronal morphology underlie the anatomical diversification of neocortical homologs in amniotes. **Cell Rep.** 31, 107592.
- \*Fujita Y, Nakanishi T, Ueno M, Itohara S, \*Yamashita T. (2020) Netrin-G1 Regulates Microglial Accumulation along Axons and Supports the Survival of Layer V Neurons in the Postnatal Mouse Brain. **Cell Rep.** 31,107580.
- Yang J., Takahashi, Y et al. (EMT International Association) (38/48) (2020) Guidelines and definitions for research on epithelial-mesenchymal transition. **Nat. Rev. Mol. Cell Biol.** 21(6):341-352.
- Akter M, Kaneko N, Herranz-Perez V, Nakamura S, Oishi H, Garcia-Verdugo JM, \*Sawamoto K. (2020) Dynamic Changes in the Neurogenic Potential in the Ventricular-Subventricular Zone of Common Marmoset during Postnatal Brain Development. **Cereb Cortex** 30: 4092-4109.
- Fujishima K\*, Kurisu J, Yamada M, Kengaku M. (2020)  $\beta$ III spectrin controls the planarity of Purkinje cell dendrites by modulating perpendicular axon-dendrite interactions. **Development** 147(24):dev194530.
- Hirota Y, \*Nakajima K. (2020) VLDLR is not essential for Reelin-induced neuronal aggregation but suppresses neuronal invasion into the marginal zone. **Development** 147(12), 189936.
- Ochi S, Imaizumi Y, Shimojo H, Miyachi H, \*Kageyama R. (2020) Oscillatory expression of Hes1 cell proliferation and neuronal differentiation in the embryonic brain. **Development** 147(4), dev182204.
- Kitadate Y, et al., Matsuo I (17/23), et al., \*Yoshida S. (2019) Competition for mitogens regulates spermatogenic stem cell homeostasis in an open niche. **Cell Stem Cell** 24, 79-92.
- Hou PS, Miyoshi G, \*Hanashima C. (2019) Sensory Cortex wiring requires preselection of short-and long-range projection neurons through an Eg-Foxg1-COUP-TFI network. **Nat. Commun.**10(1), 3581.
- \*Kobayashi T, Piao W, Takamura T, Kori H, Miyachi H, Kitano S, Iwamoto Y, Yamada M, Imayoshi I, Shioda S, Ballabio A, \*Kageyama R. (2019) Enhanced lysosomal degradation maintains the quiescent state of neural stem cells. **Nat. Commun.** 10, 5446.
- Mori S, Sakakura E, Tsunekawa Y, Hagiwara M, Suzuki T, Eiraku M. (2019) Self-organized formation of developing appendages from murine pluripotent stem cells. **Nat. Commun.** 10, 3802.
- Kawaue T, Shitamukai A, Nagasaka A, Tsunekawa Y, Shinoda T, Saito K, Terada R, Bilgic M, Miyata T, Matsuzaki F, \*Kawaguchi A. (2019) Lzts1 controls both neuronal delamination and outer radial glial-like cell generation during mammalian cerebral development. **Nat. Commun.** 10, 2780.
- Sueda R, \*Imayoshi I, Harima Y, \*Kageyama R. (2019) High Hes1 expression and resultant Ascl1 suppression regulate quiescent versus active neural stem cells in the adult mouse brain. **Genes Dev.** 33, 511-523.
- Watanabe K, Kanaoka Y, Mizutani S, Uchiyama H, Yajima S, Watada M, \*Uemura T, & \*Hattori Y. (2019) Interspecies comparative analyses reveal distinct carbohydrate-responsive systems among *Drosophila* species. **Cell Rep.** 28, 2594-2607.e7.
- Shinoda H, Lu K, Nakashima R, Wazawa T, Noguchi K, Matsuda T, \*Nagai T. (2019) Acid-Tolerant Reversibly Switchable Green Fluorescent Protein for Super-resolution Imaging under Acidic Conditions. **Cell Chem. Biol.** 26(10).
- \*Tsuboi M, Hirabayashi Y, Gotoh Y. (2019) Diverse gene regulatory mechanisms mediated by Polycomb group proteins during neural development. **Curr. Opin. Neurobiol.** 59, 164-173.
- Seto Y, Eiraku M. (2019) Toward the formation of neural circuits in human brain organoids. **Curr. Opin. Cell Biol.** 61, 86-91.
- Hatakeyama J\*, Shimamura K\*. (2019) The pace of neurogenesis is regulated by the transient retention of the apical endfeet of differentiating cells. **Cerebral Cortex** 29(9): 3725-3737.

- Inoue S, Hayashi K, Fujita K, Tagawa K, Okazawa H, Kubo K, \*Nakajima K. (2019) Drebrin-like (Dbnl) controls neuronal migration via regulating N-cadherin expression in the developing cerebral cortex. **J. Neurosci.** 39(4), 678-691.
- Petrungaro G, \*Uriu K. \*Morelli LG. (2019) Synchronization dynamics of mobile oscillators in the presence of coupling delays. **Phys. Rev. E** 99, 062207.
- Farhana I, Hossain MN, Suzuki K, Matsuda T. \*Nagai T. (2019) Genetically Encoded Fluorescence/Bioluminescence Bimodal Indicators for Ca<sup>2+</sup> Imaging. **ACS Sens.** 4(7), 1825-1834.
- Tsuboi M, \*Kishi Y. Kyozuka W. Koseki H. Hirabayashi Y. \*Gotoh Y. (2018) Ubiquitination-independent repression of PRC1 targets during neuronal fate restriction in the developing mouse neocortex. **Dev. Cell** 47, 758-772.
- \*Kimura-Yoshida C. Mochida K. Nakaya M. Mizutani M. \*Matsuo I. (2018) Cytoplasmic localization of GRHL3 upon epidermal differentiation triggers cell shape change for epithelial morphogenesis. **Nat. Commun.** 9, 4059.
- Lanjakornsiripan D, Pior BJ, Kawaguchi D, \*Furutachi S. Tahara T. Katsuyama Y. Suzuki Y. Fukazawa F. \*Gotoh Y. (2018) Layer-specific heterogeneity of astrocytes and its dependence on neuronal layers. **Nat. Commun.** 9, 1623.
- Kawabata-Galbraith K, Fujishima K, Mizuno H, Lee SJ, Uemura T, Sakimura K, Mishina M, Watanabe N, Kengaku M. (2018) MTSS1 regulation of actin-nucleating formin DAAM1 in dendritic filopodia determines final dendritic configuration of purkinje cells. **Cell Rep.** 24(1), 95-106.e9.
- Shinoda H, Ma Y, Nakashima R, Sakurai K, Matsuda T. \*Nagai T. (2018) Acid-Tolerant Monomeric GFP from *Olindias formosa*", **Cell Chem Biol.** 25(3), 330-338.
- Hirota Y, Kubo K, Fujino T, Yamamoto TT, \*Nakajima K. (2018) ApoER2 controls not only neuronal migration in the intermediate zone, but also termination of migration in the developing cerebral cortex. **Cereb. Cortex** 28(1), 223-235. (Adopted for the journal cover illustration)
- Wu YK, \*Umeshima H. Kurusu J. \*Kengaku M. (2018) Nesprins and opposing microtubule motors generate a point force driving directional nuclear motion in migrating neurons. **Development** 145(5):dev158782.
- Matsumiya M, Tomita T, Yoshioka-Kobayashi K, Isomura A, \*Kageyama R. (2018) ES cell-derived presomitic mesoderm-like tissues for analysis of synchronized oscillations in the segmentation clock", **Development** 145, dev156836.
- \*Okuda S. Takata N. Hasegawa Y. Kawada M. Inoue Y. Adachi T. Sasai Y. \*Eiraku M. (2018) Strain-Triggered Mechanical Feedback in Self-Organizing Optic-Cup Morphogenesis. **Sci. Adv.**, 4(11), #eaau1354.
- \*Okuda S. Miura T. Inoue Y. Adachi T. Eiraku M. (2018) Combining Turing and 3D Vertex Models Reproduces Autonomous Multicellular Morphogenesis with Undulation, Tubulation, and Branching. **Sci. Rep.** 8(1), #2386.
- \*Kawaguchi K. Kageyama R. \*Sano M. (2017) Topological defects control collective dynamics in neural progenitor cell cultures. **Nature** 545, 327-331.
- \*Isomura A. Ogushi F. Kori H. \*Kageyama R. (2017) Optogenetic perturbation and bioluminescence imaging to analyze cell-to-cell transfer of oscillatory information. **Genes Dev.** 31, 524-535.
- Matsunaga Y, Noda M, Murakawa H, Hayashi K, Nagasaka A, Inoue S, Miyata T, Miura T, Kubo K, \*Nakajima K. (2017) Reelin transiently promotes N-cadherin-dependent neuronal adhesion during mouse cortical development. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 114(8), 2048-2053.
- Takata N, Abbey D, Fiore L, Acosta S, Feng R, Gil HJ, Lavado A, Geng X, Interiano A, Neale G, Eiraku M. Sasai Y. Oliver G. (2017) An Eye Organoid Approach Identifies Six3 Suppression of R-spondin 2 as a Critical Step in Mouse Neuroretina Differentiation. **Cell Rep.** 21, 1534-1549.
- Takata N, Sakakura E, Eiraku M. Kasukawa T. Sasai Y. (2017) Self-patterning of rostral-caudal neuroectoderm requires dual role of Fgf signaling for localized Wnt antagonism. **Nat Commun.** 8, 1339.
- Matsubara Y, Hirasawa T, Egawa S, Hattori A, Suganuma T, Kohara Y, Nagai T, Tamura K, Kuratani S, \*Kuroiwa A. \*Suzuki T. (2017) Anatomical integration of the sacral-hindlimb unit coordinated by GDF11 underlies variation in hindlimb positioning in tetrapods. **Nat. Ecol. Evol.** 9, 1392-1399.
- Kawai H, \*Kawaguchi D. Kuebrich BD. Kitamoto T. Yamaguchi M. Gotoh Y. \*Furutachi S. (2017) Area-Specific Regulation of Quiescent Neural Stem Cells by Notch3 in the Adult Mouse Subependymal Zone. **J. Neurosci.** 37, 11867-11880.

- Bansod S, Kageyama R, \*Ohtsuka T. (2017) Hes5 regulates the transition timing of neurogenesis and gliogenesis in mammalian neocortical development. **Development** 144, 3156-3167.
- \*Suzuki T, \*Morishita Y. (2017) A quantitative approach to understanding vertebrate limb morphogenesis at the macroscopic tissue level. **Curr. Opin. Genet. Dev.** 45, 108-114.
- \*Itoh Y, Higuchi M, Oishi K, Kishi Y, Okazaki T, Sakai H, Miyata T, Nakajima K, Gotoh Y. (2016) The PDK1-Akt Pathway Regulates Radial Neuronal Migration and Microtubules in the Developing Mouse Neocortex. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 113, E2955-64.
- Hasegawa Y, Takata N, Okuda S, Kawada M, Eiraku M, \*Sasai Y. (2016) Emergence of dorsal ventral polarity in ESC-derived retinal tissue. **Development** 143, 3895-3906.

**主な学会発表**：2019年韓国 Deagu で開催された IBRO 世界大会では本新学術領域によってセッションを主催し、2018年奈良で開催された ISDN 国際大会では本新学術領域班員による主催・発表が行われた。

Gotoh Y. Chromatin-level regulation of neural stem/progenitor cell fate. Invited Lecture. IBRO 10<sup>th</sup> World Congress, Deagu, Korea, September 21-25, 2019.

Matsuzaki F, Fujita I, Shitamukai A, Kusumoto F, Mase S, Suetsugu T, Kato K, Abe T, Shioi G, Konno D. Structural plasticity of neural stem cells in mammalian brain development. Symposium: “Intracellular and intercellular signaling in cortical cell fate control” (Chair: Hanashima C), IBRO 10<sup>th</sup> World Congress, Deagu, Korea, September 21-25, 2019.

Hanashima C. Mechanisms of neuronal subtype specification and integration in the cerebral cortex. Symposium: “Intracellular and intercellular signaling in cortical cell fate control” (Chair: Hanashima C), IBRO 10<sup>th</sup> World Congress, Deagu, Korea, September 21-25, 2019.

Kageyama R. High Hes1 expression and resultant Ascl1 suppression regulate quiescent versus active neural stem cells in the adult mouse brain. Symposium: “Transcriptional regulation of neural cell fate”, IBRO 10<sup>th</sup> World Congress, Deagu, Korea, September 21-25, 2019.

Kengaku M, Wu YK, Nakazawa N, Grenco G. Cytoskeletal forces driving nuclear migration in developing neurons. Symposium: “Intracellular and intercellular signaling in cortical cell fate control” (Chair: Kosodo Y), IBRO 10<sup>th</sup> World Congress, Deagu, Korea, September 21-25, 2019.

Nakajima K. Control of neuronal layer formation during cerebral cortical development. Symposium: “Cell migration and layer formation in the developing cerebral cortex” (Chair: Nakajima K), 22<sup>nd</sup> Biennial Meeting of the International Society for Developmental Neuroscience, Nara, May 22 -25, 2018.

Yuizumi N, Kuwayama N, Kishi Y, Gotoh Y. Regulation of embryonic and adult neural stem cell fate. Mini symposium: “Neural stem-progenitor cells in the embryonic, early postnatal, and adult mammalian brain” (Chair: Gotoh Y), 22<sup>nd</sup> Biennial Meeting of the International Society for Developmental Neuroscience, Nara, May 22 -25, 2018.

Hirata T. Neuronal birthdate tagging: Cre-ER mouse lines for birthtime-dependent classification and manipulation of neuron subsets. 22<sup>nd</sup> Biennial Meeting of the International Society for Developmental Neuroscience, Nara, May 22 -25, 2018.

### 主な書籍

Timing and shaping mechanisms of neural development (Edited by Kageyama R & Nakajima K), **Neuroscience Research**, vol 138, pp. 1-84. January 2019. 本新学術領域の班員 10 名による共同執筆。

### 産業財産権

特許名称：蛍光タンパク質、国内登録番号：特許第 6762069 号（2020 年 9 月 10 日）、外国登録番号：10899804 号（2021 年 1 月 26 日 アメリカ）発明者：永井健治、篠田肇、松田知己、マ ユアンキン

国内特許願：三好悟一

【発明の名称】自閉症の特徴を示すげっ歯類動物 【出願日】2018 年 5 月 11 日

【出願番号】特願 2018-092200 整理番号:TW0309 受付番号:51800984695

国外特許願：三好悟一 【国名】米国

【発明の名称】 自閉症の特徴を示すげっ歯類動物 【出願日】 2019年5月10日

【基礎出願番号】 特願 2018-092200 (2018年5月11日)

## ホームページ

(和文) 脳構築における発生時計と場の連携 <<http://www.time.icems.kyoto-u.ac.jp>>

(英文) Interplay of developmental clock and extracellular environment in brain formation  
<<http://www.time.icems.kyoto-u.ac.jp/en/index.html>>

## 主催シンポジウム

丸山：20<sup>th</sup> TMIMS International Symposium: “The principles of neocortical development and evolution”, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, Tokyo (Japan), 2019年7月30日

仲嶋：Symposium: “Cell migration and layer formation in the developing cerebral cortex” (Chair: Kazunori Nakajima) 22nd Biennial Meeting of the International Society for Developmental Neuroscience (ISDN2018), Nara Kasugano International Forum, Nara (Japan), 2018年5月22-25日

影山：国際若手研究者ワークショップ。京都、2018年3月19日～23日（4泊5日）海外の新進気鋭の若手研究者10名を招待。日本側からは若手研究者が29演題の口頭発表と21演題のポスター発表。

上村：2017年度生命科学系学会合同年次大会（ConBio2017）において、ワークショップ「ライフイベントを紡ぐ栄養環境への適応機構」を開催した。

花嶋：Symposium: “Mavericks, New Models in Developmental Biology” (Organizers: [Hanashima, C.](#), Kiyonari, H. Kuratani, S. Behringer, R.) The 29<sup>th</sup> CDB Meeting, Kobe (Japan) 2017年10月19日～20日

## 一般向けアウトリーチ活動

2021年1月24日～3月31日（オンデマンド配信）：仲嶋一範 世界脳週間2020オンラインイベント「脳学問のすゝめ」 研究講演「細胞たちが脳を作るしくみ」及び バーチャルラボツアー

2020年9月2日：仲嶋一範 講演「脳が作られるしくみ」栄光学園中学高等学校

三好悟一：国内FOXG1家族会での活動

国内家族会 オンライン2021年2月20日；横浜市2019年12月2日；東京都2019年6月16日

2019年10月1日：高橋淑子「細胞の声をきく～形づくりの不思議～」愛知県立旭丘高等学校 理科特別講座、京都大学理学部（招待講師）

2019年9月11日：見學美根子 第27回脳の世紀シンポジウム「運動／スポーツと脳」有楽町朝日ホール（主催：NPO 法人脳の世紀推進会議）講演 脳を育む『ニューロンの高層建築 ‘脳’ の建設過程を観察する』

2019年7月29日：澤本和延 大学丸ごと研究室体験～市立大学・市立高校 高大連携講座

2017年8月9日、11月4 & 5日、2018年11月3日、2019年10月19日：仲嶋一範 慶應義塾大学医学部オープンラボ

2018年7月6日：見學美根子 第96回京都大学丸の内セミナー 京都大学東京オフィス（新丸ビル10階）講演『ライブ観察で解く脳皮質形成のメカニズム』

2017年6月19日：生沼泉 姫路南高校研究室見学会 「哺乳類発生過程での脳神経系の構築のメカニズム」講義

2016年12月17日：影山龍一郎 文部科学省にてWPI10周年記念講演会「日本の科学の未来に向けて」で講演

2016年8月6日：見學美根子 第39回日本神経科学大会市民公開講座「脳科学の達人2016」講演『脳発生の掟：「礼の用は和を貴しと為す」』

## 研究成果

なぜ発生過程は決まったタイミング・順番で自律的に進むのか、どのような分子機構で発生時間が計られているのか、といった発生学の長年の疑問に対する明確な答えは無かった。本領域では、発生時間に関する解析手法と情報が集積している脳を中心に据え、同様のシステムを共有していると考えられる他の臓器構築過程も含めて、発生時計が場（細胞外環境）と連携して組織構築を制御する分子機構の解明を目指した。

## 計画研究

### 研究項目 A01：細胞内在的な時間制御機構

神経幹細胞は、あらかじめ決められたスケジュールに従って、初め深層ニューロンを、続いて浅層ニューロンを産生し、最後にはグリア細胞であるアストロサイトを産生する（図1）。A01 影山は、この神経幹細胞の分化能が移行するタイミングを制御する生物時計、いわゆる発生時計の実体を明らかにすることを目標とした。分節時計遺伝子 Hes7 と同じファミリーに属し、かつ神経幹細胞の維持に重要な役割を担う転写抑制因子 Hes1 や Hes5 はネガティブフィードバックを介して自律的に2～3時間周期で発現振動することから、Hes1 や Hes5 が神経発生過程において生物時計として機能する可能性について調べた。その結果、神経幹細胞で Hes1 や Hes5 の発現レベルが持続して増加あるいは低下すると、神経幹細胞の分化能の移行がそれぞれ加速あるいは遅延することを明らかにした。従って、Hes1 や Hes5 は神経発生過程の進行を制御する発生時計として働くことが明らかになった（図1①）。また、神経幹細胞や分節時計における安定な発現振動は Notch シグナルによって制御されること、この発現振動の周期に見られる種差は神経幹細胞や分節時計に共通に見られる機構によることを示した。

一方、神経幹細胞は未分化な状態を保ちつつ様々な細胞に分化する能力を併せ持つが、A01 後藤はこの発生時計依存的な分化状態制御機構について探った。この2つの性質を維持するために、神経幹細胞は分化細胞で機能する遺伝子の転写を「仮抑制（一過的抑制）」しており、分化を促すシグナルにより転写活性化しうる準備状態を保持している。しかし、発生が進行すると発生時計依存的に分化能を徐々に限定し、特定の分化系譜が選ばれる過程で選ばれなかった分化系譜で機能する遺伝子は「永続抑制」される。この発生時計依存的な分化運命制御機構を検討したところ、ポリコーム群タンパク質（PcG）が分化関連遺伝子の「仮抑制」状態と「永続抑制」状態を異なる機序で司ることを明らかにした（図1②）。以上のように、当初の目標であった、神経幹細胞の分化能の移行タイミングを制御する内在性生物時計の実体、その下流の分化状態制御機構を明らかにできた。

### 研究項目 A02：細胞と場の連携による制御

発生期の脳皮質においては、発生時計に依存して神経幹細胞から次々に異なる特徴を持ったニューロンが産生されるが、それらが場との連携によっていかにして脳表面近くへと適切に移動し、その後層構造を作って分化していくのかを明らかにすることを目指した。新たに産生されたニューロンを適切に辺縁帯直下まで移動させ、誕生時期に応じて層状に並べていく過程の制御として、A02 仲嶋は、A03 安達、A01 影山、A03 松田と連携し、Reelin とその下流で制御される N-cadherin を中心とした機構を明らかにした。また、神経幹細胞から産生された時点ではニューロンはまだ一定範囲の分化ポテンシャルを持っており、移動を終えた後に場からの細胞外シグナルを受けて層特異的な特徴を持ったニューロンへと分化していく過程を制御する重要な候補分子を見出した（図2①：2/3/4層に分化しうる細胞が移動後の環境に応じて2/3層あるいは4層ニューロンに分化）。A02 見學は、ニューロンと脳組織の剛性を計測したところ、核膜分子 LINC 複合体の特殊な構成のためニューロン核は非常に柔らかく、組織全体の柔軟性に

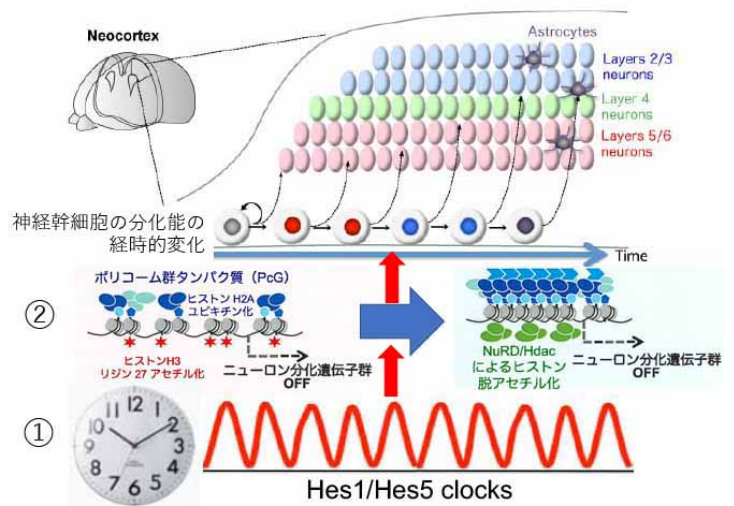
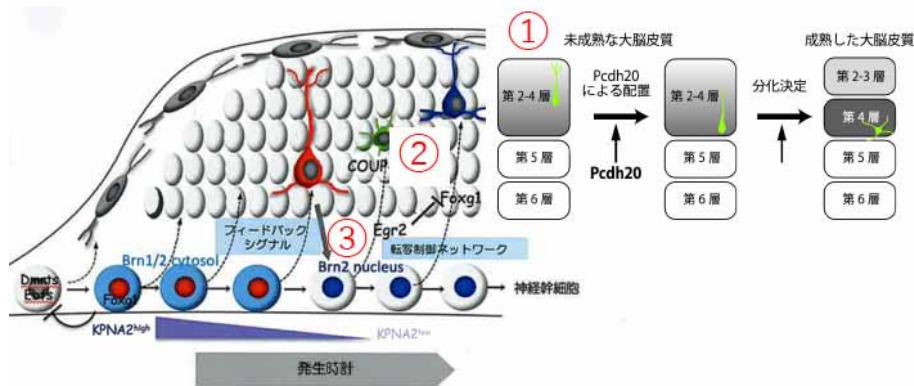


図1：細胞内在的な時間制御機構。①Hes1/Hes5 時計による神経発生制御。②PcG による発生時計依存的な仮抑制と永続抑制。



も寄与して皮質形成期の遊走を可能にすること (図2②)、さらに、伸展中の樹状突起フィロポディアが周辺の形状を読み取り樹状突起の空間分布を決定する機構を明らかにした。

A02 花嶋は、深層ニューロン産生後に浅層ニューロンを産生する神経幹細胞の分化能切り替えに関して、これを推進する環境因子の同定を試みた。その結果、ニューロンから神経幹細胞へのフィードバックによって POU 転写因子 Brn2 は細胞質から核へ移行し、神経幹細胞が上層ニューロン分化を開始することがわかった

図2：細胞と場の連携による制御。①2/3/4層に分化しうる細胞が移動後の環境に応じて2/3層あるいは4層ニューロンに分化。②ニューロンの遊走を可能にする場の制御。③ニューロンから神経幹細胞へのフィードバックによる分化能転換。

た (図2③)。このように、当初の目標であった、周辺環境 (場) からニューロンや神経幹細胞への入力によって適切な細胞種や層構造が構築されていく制御機構が明らかになった。

### 研究項目 A03：実験技術開発

研究項目 A01 や A02 の研究を推進するため、ES 細胞 3 次元培養の応用、新規プローブ開発、数理モデル構築を行った。A03 永樂は、マウスおよびヒトの大脳および網膜オルガノイド系を確立し (図3①)、継時的な RNA-seq および 1 細胞 RNA-seq を行い発生過程の細胞分化動態を比較解析した。その結果、マウス網膜形成過程特異的に寄与する新規の細胞とその形態形成における役割、ヒト網膜組織の形成過程に特異的に存在する神経前駆細胞種を同定した。A03 松田は、本領域の研究の発展に有用な、神経細胞のダイナミックな移動に伴う分子・細胞機能の変化を捉えるライブイメージングプローブ・ツールの開発を行なった。蛍光タンパク質や生物発光タンパク質を利用したイメージング技術班の発想に基づいたツール開発と、主に脳発生研究を専門とする領域の構成員との交流を元に着想を得たツール開発の2方向のアプローチにより、蛍光イメージング、生物発光イメージング、光操作のためのプローブ・ツールを複数開発した (図3②)。開発したプローブ・ツールの内の10種類に関しては、遺伝子をコードするプラスミド DNA が非営利のプラスミドバンク Addgene に登録されており、国内外の研究者のリクエストに応じて配布されている。A03 安達は、現象の数理モデル化とシミュレーションを駆使し、時間と場に依存した脳発生制御機構を多細胞ダイナミクスに基づいて統合的に理解することを目指した (図3③)。そのため、分子・細胞・組織・器官レベルにおいて得られた個別の知見をコンピュータ内に集約し、それらを統合した脳発生シミュレーション基盤の構築を進めた。以上のように、当初の目標であった各種実験技術開発がなされ、共同研究の発展に貢献した。

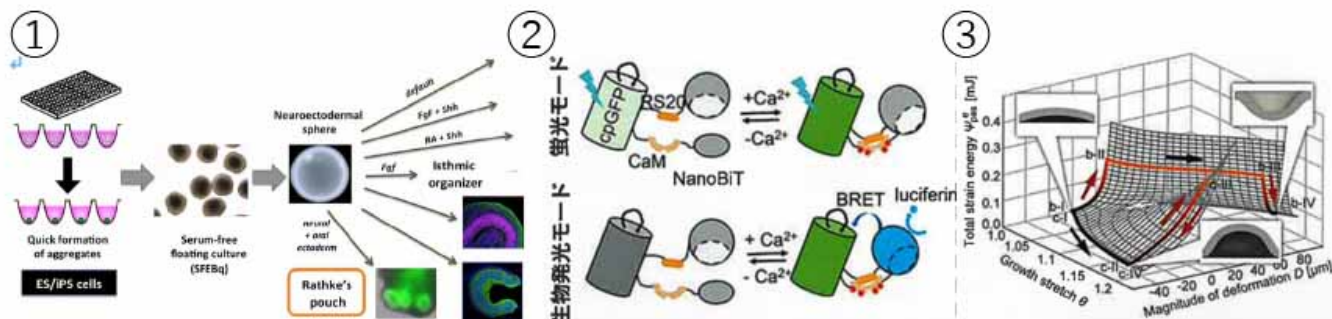


図3：実験技術開発。①オルガノイド系の確立。②新規プローブ開発。③数理モデル構築。

### 公募研究

#### 研究項目 A01：細胞内在的な時間制御機構

松崎は、マウスの神経発生初期 (増殖期および神経産生初期) には、上皮構造を持つ神経幹細胞は、細胞分裂軸の揺らぎや変異導入によるランダム化によって分裂期に apical 側の足 (endfoot) を失っても完全な上皮構造を再生することを発見した。また、神経幹細胞の上皮構築の再生能は、時間とともに減衰して

ちょうど上層ニューロンを作る頃にはほとんど失うが、分裂軸の揺らぎによって **apical endfoot** を喪失した神経幹細胞はより **basal** 側へ移動する幹細胞となることを見出した。これらの移動幹細胞はフェレットや霊長類では **outer radial glia** と呼ばれ、新しい幹細胞層を生じ、神経産生を活発に行う。すなわち、これまで知られていなかった、新たな幹細胞層形成のタイミングを決定する仕組みを明らかにした (A02 川口との共同研究)。さらに、ヒトとフェレットの比較単一細胞転写解析と組織学的解析から、これまでヒトでしか知られていなかった **truncated radial glia** 細胞がフェレットにも存在し、その経時的解析から上皮細胞あるいはグリア細胞に分化することが示唆された。

**ムーア**は、ショウジョウバエ生体内の樹状細胞分化のイメージングに関して、コンピューターを用いた自動化特徴検出法を開発した。本手法は微小環境およびマクロの樹状突起形成をモニタリングすることを可能にするものであり、本手法を用いることにより、初期成長パターン化事象における樹状突起トポロジーの重要な分子レギュレーターとしてミオシン VI を同定した。

**森**は、脳構築における時間軸を規定する分子実体の同定を目指し、マウスの脳内で進行する年齢依存的オルタナティブ・スプライシング (ADAS) を同定した。ADAS の責任分子の1つとして脳構築期に高発現するスプライシング因子である SRSF7 を同定した。Srsf7 ノックアウトマウスでは ADAS の約 1/3 が異常となり、脳の組織学的成熟が障害されて成長不全を呈した。

**笹井**は、神経管のパターン形成を制御する **Sonic Hedgehog** シグナル活性の経時的な変化についての解析を行い、膜タンパク質の1つ **GPR17** がシグナルのフィードバックを制御してパターン形成の頑強性を担保することを明らかにした。

**島崎**は、A02 川口と共同で時系列特異的なニューロンサブタイプ分化を制御する転写因子群を同定した。

**佐藤**は、Proneural Wave の数理モデルを発展させ、cis-inhibition に強い非線型性を導入すると、Proneural Wave の前後で Notch が2回に分けて活性化する現象を再現できること、Proneural Wave の波面において Delta 依存的に Notch が急速に分解されることで、この非線型性が生じることを明らかにした。さらに、Delta と Notch が同じ細胞内において相互作用し、初期エンドソームを介して Notch が分解され、一方で Delta はリサイクルエンドソームを介して細胞膜に戻ることを明らかにした。

**渡邊**は、網膜発生過程におけるエピゲノム解析を行った。

**松田**は、A01 影山と共同でヒトとマウスの体節時計の周期長の違いを生み出す原理を明らかにする目的で、in vitro 誘導系による体節時計を用いて解析したところ、分節時計がマウスに比べてヒトでは約 2.5 倍遅いこと、この差は分節時計遺伝子 Hes7 の塩基配列の種差ではなく、転写、スプライシング、翻訳、分解のスピードの種差によること、神経発生過程の時間の種差も同じ機構によることを明らかにした。

**鈴木**は、分節のサイクルが特定の遺伝子の発現を介して後肢の位置を決定するしくみを明らかにしたいと考え、平成 29 年度に TGF- $\beta$  スーパーファミリーの分泌因子である **GDF11** が、隣接する側板中胚葉に直接作用し、下流で後肢形成に必須な遺伝子の発現を誘導しながら種に固有の体節レベルに後肢を誘導することを発見した。さらに頭から後肢の位置までの脊椎骨の数の異なる 9 種 (ゼブラフィッシュ、アフリカツメガエル、スッポン、ヤモリ、ニワトリ、マウス、エミュー、ウズラ、シマヘビ) の初期胚を自分たちで単離し、*Gdf11* が発現を開始するタイミングを調べた結果、種に固有の後肢の位置は中軸中胚葉に発現する *Gdf11* の発現開始タイミングの違いに起因することを明らかにした。

**荻沼**は、キリフィッシュの休眠を制御するホルモンの役割を調べ、その濃度に比例してキリフィッシュやゼブラフィッシュ胚全体の発生速度が変動することを発見した。本研究成果は、ほとんど分かっていなかった胚全体の発生速度を制御する内因的な時計機構の分子メカニズムに迫るものである。

**松尾**は、着床前の多能性をもつエピブラスト細胞では、多能性維持に関与する分子経路の遺伝子群が BET ファミリータンパク質に依存して転写が活性化されていることを見出した。着床後には、エピブラスト細胞は、遠位臓側内胚葉細胞へと分化すると前後軸が形成される。この細胞の特異化には、エピブラスト細胞の置かれた物理的な環境、具体的には子宮平滑筋収縮によってエピブラストにかかる力が最大になるタイミングで細胞分化が起こることを見出した (A03 安達との共同研究)。さらに、神経胚期の外胚葉性未分化前駆細胞では、カノニカル Wnt 経路の活性化によって表皮へと分化し、分化後、更にノンカノニカル Wnt 経路が活性化されて細胞形態が変化することを見出した。

**高田**は、A03 瓜生と共同で分節時計が体節形成時に止まる分子機構を探り、新たな数理モデルを提唱した。

**堀川**は、細胞内外で機能する重要なシグナル伝達因子 cAMP を可視化できる新規赤色蛍光プローブ R-FlinA を開発し、ヘテロな細胞集団の自己組織化原理の一端を解明した。

## 研究項目 A02 : 細胞と場の連携による制御

**川口**は、A02 松崎と共同で、微小管関連分子と報告される Lzts1 が分化細胞の脳室面からの離脱のみならず、outer radial glia 誕生を引き起こす実行役分子として働いていることを見出した。



丸山は、脳構築過程におけるサブプレート層のニューロンと細胞外基質の役割を明らかにした。

生沼は、神経回路構築におけるアクチン足場蛋白質 afadin のスプライシングの時空間制御機構を探った。

眞田は、細胞外のリゾフォスファチジン酸(LPA)が、新生した神経細胞の LPA 受容体 4 を介してアクチン骨格を再構成し、神経細胞が多極性から二極性へと形態変化して細胞移動を開始することを見出した。

田中は、オリゴデンドロサイトの細胞体が一列に並んだビーズ状形態をとる分子機構を探った。

西村は、表層グリア細胞は幹細胞ニッチとして機能するだけでなく、栄養状態に応じて脳内のインスリンシグナルを厳密に調節する重要な役割を果たしていることを明らかにした。

畠山淳は、脳脊髄液中に存在する霊長類特異的な因子を同定し、霊長類の神経幹細胞の増殖を促すこと、発現していないマウス胚の脳に作用させると脳が巨大化することを明らかにした。また、脳室内の圧は陽圧で、神経上皮に張力がかかっていること、その張力は増殖を促進することを明らかにした。

藤田は、神経幹細胞特異的コヒーシ欠損マウスでは神経分化が障害されることを明らかにした。

別所は、ゼブラフィッシュ側線器官原基が胚の後方に向かって集団移動するとき、側線器官に投射するコリン作動性神経の時間制御によってそれぞれの側線器官の適切な配置に寄与することを明らかにした。

三好は、自閉症 FOXP1 症候群は遺伝子変異によるコピー数の増加や減少（点変異ハプロ不全）により発症するが、マウスモデルにおいても FoxP1 増加・減少いずれのケースも自閉症様表現型である社会性行動異常やガンマ脳波減衰を確認した。そして発症を左右する臨界期が生後 2 週目に形成され、この 1 週間の正常な FoxP1 発現によって抑制回路の発達および社会性の形成が促進されることを明らかにした。

澤本は、脳室下帯の神経幹細胞から産生された未熟な新生ニューロンはアストロサイトが形成するトンネル (RMS) を通って嗅球まで移動するが、RMS という「場」が新生ニューロンの「発生時計」を止め、未分化性を保って嗅球まで移動を維持させることを明らかにした。

佐々木は、内部細胞塊で Hippo 経路因子 YAP が核移行する仕組みとして、1 回目の分化により作られた栄養外胚葉による胞胚腔を拡大させる膨張力という場の情報による核の扁平化と、内部細胞塊の転写因子 SOX2 の発現による細胞の性質変化の 2 つがあり、これらの場と細胞の連携により自律的に 2 段階の細胞分化が起こることを明らかにした。

清木は、ARHGAP11A は場の力学情報に応答して細胞質に移行すると 1 次繊毛形成を促進するとともに YAP の活性を抑制し、細胞増殖を抑制する働きがあることを明らかにした。

上村は、モデル生物と、自然界で特定の栄養環境に適応している近縁の非モデル生物との対比により、進化の過程で獲得された炭水化物応答機構の重要性を明らかにした。

高橋は、腸筋肉層由来細胞の長期培養法を考案し、収縮性オーガノイドの作製に成功した。オーガノイド形成過程の詳細な解析から、振動運動のペースメーカーといわれる「カハールの介在細胞」(ICC 細胞) の特性の一端を明らかにした。

本田は、脳回路構築における軸索配線原理の解読に向けた機械学習法を開発した。

### 研究項目 A03 : 実験技術開発

瓜生は、ゼブラフィッシュ胚で阻害剤除去後、正常な体節境界が一度回復した後で再び欠陥のある体節境界が形成されることを発見し、これは再同期過程において渦状の位相パターンが形成されて体節境界の位置決定に異常が起き生じることをシミュレーションで示した。また、体節形成が起きる未分節中胚葉の組織長や組織伸長パターンの時間変化が、再同期の完了までにかかる時間に影響することをシミュレーションにより予測し、実験データと比較することで検証し、Delta-Notch シグナルに内在する時間遅れが再同期過程に及ぼす影響を明らかにした。

畠山哲央は、発生の時間スケール制御に関して統計物理学的手法による再モデル化を行った。

平田は、新規開発した「神経細胞の誕生日タグつけ法」を用いて二次嗅覚系のサブ回路同定に成功した。

奥田は、増殖・分化の時間制御から空間構築への変換機構に関する数理モデルを構築した。

今井は、A02 仲嶋と共同でニューロンの移動に関する数理・計算モデル化を行った。

## 国際シンポジウム

当研究領域の成果発信及び世界トップレベル研究者との交流を目的として、最後に国際シンポジウムを開催した。当初は2021年3月に開催予定であったが、新型コロナ禍のため延期になり、2023年3月15日～17日によりやく京都において対面式で開催した。海外招待演者8名に加えて、国内演者27名が発表し、最新の成果発信ができた。また、多くの若手研究者も参加し、活発な情報交換ができ、本領域の最終行事として有終の美を飾ることができた。



# International Symposium on Neural Development and Diseases

supported by MEXT Research Program