

領域略称名：大脳新皮質構築
領域番号：3214

平成24年度科学研究費補助金「新学術領域研究
(研究領域提案型)」に係る研究経過等の報告書

「神経細胞の多様性と大脳新皮質の構築」

(領域設定期間)
平成22年～平成26年

平成24年6月

領域代表者 基礎生物学研究所・脳生物学研究部門・教授・山森 哲雄

目次

	頁
3. 研究領域の目的及び概要	3
4. 研究の進展状況	4
5. 研究を推進する上での問題点と今後の対応策	5
6. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	6
7. 研究成果の公表の状況 （主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）	12
8. 研究組織と各研究項目の連携状況	23
9. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	25
10. 今後の研究領域の推進方策	27
11. 総括班評価者による評価の状況	28

3. 研究領域の目的及び概要

研究目的

大脳新皮質は、哺乳類において始めて出現し、ヒトにおいて最も高度に発展した組織であるが、領野と呼ばれる機能的単位から構成される。領域代表者は、霊長類の領野間で顕著な発現の差のある遺伝子を探索し、連合野特異的・視覚野特異的な2群に分かれることを明らかにしてきた。領野という大脳新皮質構築の最終的産物の形成機構を知る為には、しかし、神経幹細胞の多様な神経細胞を生み出す機構から出発することが重要である。神経細胞の多様性は、遺伝的にプログラムされた細胞系譜と外界からの環境入力によって決まると考えられている。このことは、一般には「Nature or Nurture」と表現されるが、高等動物、特に哺乳類の脳神経系では、細胞系譜の決定自体が、外からの入力によって常に影響を受けるので、より精密なパラダイムの構築が必要である。本提案では、こうした視点から、研究の焦点を発生時間軸に沿った3段階に分け、各段階で見られる多様性形成過程を解明し、その上で、それぞれの研究の共同研究により、広い分野の研究者が参加したより包括的な視点から大脳新皮質の機構を解明する研究領域を提案した。

研究の概要

大脳新皮質は、神経管の形成を経て始まる。神経細胞の多様性が生じる第1の段階は、神経管内の脳脊髄液に接する上皮細胞層が分裂を繰り返す、多数の神経細胞を生ずる段階で起こる。そこで、本研究領域では、これらの過程を「神経細胞の多様性を生み出す神経幹細胞メカニズム」と捉えその機構を解明する。大脳新皮質形成の第2段階は、視床等、脳の各部位から大脳新皮質への投射による外来シグナルと既にある程度ポテンシャルの決定した神経幹細胞との相互作用によって起こる「多様な神経細胞の出現と神経回路形成」である。大脳新皮質の神経細胞分化は、ある段階までは、視床等からの投射とは、独立に進行するが、大脳新皮質と他の脳領域が相互に結合すると、お互いの細胞の多様性決定の方向が調整され、個体として意味のある情報処理系が形成される。大脳新皮質形成の第3段階は、分裂を停止し、成熟しつつある神経細胞において起こる環境入力に応じた神経コード（神経細胞の結合と活動パターンによる情報表現）の変化である。その結果生ずる形態・機能の異なった神経細胞は、層・コラム・領野など、多様な階層性を持つ構造へと組織化され、高度な情報処理を可能とする場が形成される。以上の三段階による多様性形成とその相互関連の解明を目指して、次の3研究項目を設置する。

(A01 研究項目) 幹細胞からの多様な神経細胞産生

(A02 研究項目) 細胞多様性と神経投射

(A03 研究項目) 神経細胞多様性の決定 (層・領野・神経コード)

本研究領域は、神経幹細胞から大脳新皮質領野形成にいたる研究分野で国際的水準で研究を行っている9名の計画研究代表者を中核とし、神経科学の一つの新しい学問領域を形成することを目指している。現在の神経科学の基本的ドグマは、ニューロン説であり、神経細胞の様々な繋がりにより、神経ネットワークの多様な機能が出現すると考えている。しかし、従来の神経解剖学や神経生理学では、神経細胞の異同を判定する手段が限られており、観察される神経細胞がどの程度同じものなのか、あるいは、異なる神経細胞群に属するのかを判定する手段は、なお不十分である。本研究領域では、幹細胞からの神経細胞多様性形成のメカニズムを解明することにより、大脳新皮質構築の基本機構解明研究の飛躍的進展が期待できる。上記の目標を遂行する為、本領域発足時に、以下の年度別研究計画・方法を提案した。

平成22年度

領域推進の方針に基づき、各研究計画の具体的な推進をはかる。その上で、各計画研究の相互理解を深め、本研究領域として進めるべき共同研究の可能性を探る。初年度では、各研究項目内での研究の着実な推進と相互理解の浸透が特に重要であると考えている。

平成23年度以降

各計画研究で中核と成るべき分子と細胞種に関して、神経幹細胞、神経細胞の多様性、神経コード決定の関連を明らかにするような、計画研究間の共同研究と公募研究を募集する。平成23年度以降は計画研究と公募研究のそれぞれの確実な推進を前提として、計画研究と公募研究間での有機的連携、各研究項目間での研究の相互理解に基づいた個別基盤研究のみでは難しい共同研究の推進、の意識的・系統的な取り組みを行い、研究期間終了時までには、大脳新皮質の構築機構について、細胞系譜に基づいた、分子レベルでの一貫した理解を可能にする。

4. 研究の進展状況

A01 研究項目

神経幹細胞が経時的変化により多彩な細胞を産生し、大脳新皮質の多様性形成に關与する機構解明を目指して、以下のことを明らかにした。影山は、ヒストンメチル化酵素 ESET が発現すると神経細胞産生が起こり、発現低下によってアストロサイト産生に移行すること、後藤は、クロマチン凝集状態に關わる転写因子 HMGA をグリア分化期に過剰発現すると神経細胞分化能を再獲得させる能力があること、島崎は、グリア産生移行に重要な役割を担う Coup-TFI/II の下流で複数の miRNA が機能することを示し、神経細胞産生期とグリア産生期における神経幹細胞の分子基盤の解明が進展した。更に、公募班員の研究から、神経幹細胞の自己複製主体の分裂モードから神経細胞産生主体の分裂モードへの移行に PAR3 が重要な役割を担うこと(廣瀬)、Wnt5a-Ror1/Wnt5a-Ror2 シグナルが Dishevelled2 を介して神経細胞産生能を持った神経幹細胞の維持に働くこと(遠藤)、神経細胞サブタイプ産生の切り換えに Foxg1 が重要な役割を担うこと(花嶋)、Myc はグリア分化促進因子 Olig2 の発現を抑制することで神経細胞産生を促進すること(長尾)、転写抑制因子 RP58 は Id1-4 の転写抑制によって p57 の発現を上昇させて細胞周期離脱を起こして神経細胞分化を促進すること(岡戸)、DNA メチル化酵素 DNMT1 が後期神経細胞産生に關与すること(波平)などが示され、多様な神経細胞産生を可能にする分子機構が明らかになった。

A02 研究項目

層特異的神経細胞の多様性形成機構と神経投射の關連を明らかにすることを目的として以下のことを明らかにした。大隅は、層特異的神経細胞の分化に關して、Pax6, Dmrt1,等の転写制御因子ネットワークや、Cyclin D2 の細胞内局在、ヒストンのアセチル化、糖タンパク質の制御等の多様かつ精緻な分子機構が働くことにより、層特異的神経細胞の産生や配置の厳密な制御を明らかにした。神経軸索投射に關し、榊は、脱硫酸化酵素 Sulf1/Sulf2 による軸索ガイダンス分子の局在制御の重要性を明らかにした。野田は、プロテアーゼ活性を抑制的に制御することにより、Notch シグナルを制御する腫瘍抑制因子 RECK の脳虚血後の組織障害と機能回復促進等に關与することを明らかにした。公募班員の研究から、CaMKK-CaMKI 経路の活性化・樹状突起伸長方向の制御(貝淵)やダブルコルチン様キナーゼの新規基質 MAP7D1 による軸索形成分子メカニズム(古泉)が明らかになった。また、視床皮質路の構築に關する理解が進み、間脳の領域化(小野)、軸索ガイダンス分子 draxin(新明)、セマフォリンとプレキシシン等(須藤:大隅共同研究者)の重要性が浮かび上がった。既知の軸索ガイド分子以外に、核マトリックス構成転写因子 Satb2 と発現制御に關わるエンハンサー領域(SINE)、転写因子 Nfix との結合による発現制御の脳梁の形成への關与など、新規知見が得られた(西原)。神経活動に依存的脳皮質回路構築機構解明にも進展が認められた(田川)。Sulf1/2 遺伝子の霊長類大脳新皮質発現を解析し、高次脳機能との關連を調べる(榊・山森)等の他の項目との共同研究も始まっている。

A03 研究項目

大脳新皮質が多様な階層性を持つ構造へと組織化され、高度な情報処理が可能となる基本的機能を分子面から明らかにする為、三品は、精神遅滞や自閉症の原因遺伝子 IL1RAPL1 を調べ、PTPδとシナプス間の接着分子作用により、大脳新皮質神経細胞のシナプス形成制御機構を明らかにし、小脳における Cbln・Neurexin・GluRδ2 によるシナプス形成機構解明と合わせ、脳の二大領域におけるシナプス形成の分子機構の違いを明らかにした。山森は、大脳新皮質が発達している霊長類で、視覚野と連合野において、それぞれ顕著に発現する遺伝子群を発見した。視覚野特異的発現遺伝子の機能は、昼と夜で 10^7 以上も違う光量に対して視覚の恒常性を維持することにあると考えられ、その為、活動依存的な遺伝子発現制御様式が進化したと考えられる。その機構解明の為、マーモセットをモデル系として用い、一次視覚野の活動依存的遺伝子群を明らかにした。線虫では全ての神経細胞の系譜と基本的な神経回路が同定され、細胞系譜により厳密に運命決定されているこれらの神経細胞においても、シナプスや伝達様式を制御することによって、その神経コードが変化することが最近判ってきた。これは、多様性の一つの究極の様式であると考えられ、これをモデルシステムとした神経コード決定の分子機構を明らかにする為、森は、線虫の走温性の分子メカニズムを解析し、異なる感覚神経から同一の介在神経(AIY)に興奮性と抑制

性の異なる神経伝達があることを明らかにした。また、公募研究により、発達期介在神経の移動様式（村上）、GABA作用に必須の塩素イオン輸送の発達期大脳新皮質における輸送機構（井上）、PV陽性抑制性神経細胞への抑制性投射の特性が明らかにされた（日置）。更に、線虫走温性（森）と霊長類一次視覚野遺伝子の活動依存的遺伝子発現（山森）の比較から2つの系で驚くほどの共通性が判った。

5. 研究を推進する上での問題点と今後の対応策

本研究領域の発足時に、審査委員会から指摘されたポイントを整理すると次の4点になる。1) 研究テーマが多岐にわたっているため、5年間の研究期間の中で共通のゴールをめざし、新機軸を打ち出していくこと、2) オプトジェネティクスのような新手法については、研究領域内に支援班を構築し、技術サポートを行う可能性についての意見、3) 線虫の回路形成と大脳新皮質研究の有機的連携、4) 公募研究における若手研究者育成や異分野との取り組みへの配慮等が提起された。これに対しては、以下のような対応策をとった。

1) については、平成23年度の夏の班会議（平成23年8月20日～21日、神戸）、国際シンポジウム（平成24年3月10日～13日、岡崎、外国人講演者8名、日本人講演者24名、ポスター発表領域内19、領域外29、計137名参加）で国内外での当該分野の現状を集中的に討議することによって、幹細胞の運命決定と分裂様式の関連、霊長類とげっ歯類における共通性と相違点など共通の問題意識を通じて、大脳新皮質を構成する細胞の多様な性質を理解する視点が領域内に確立してきた。今年度（平成24年度）は、更に、班会議（7月26日、仙台）、関連する他の新学術領域メゾスコピック神経回路との合同ワークショップ（7月24日～25日、仙台）や3領域合同（本領域、メゾスコピック神経回路、神経系の動作原理を明らかにするためのシステム分子生物学）国際シンポジウム（11月27日～28日、東京）を予定している。これらの討議の深化を踏まえて、新規公募班（平成25、26年度）を含む研究組織の再編と構築を行う予定である。

2) 当領域は、神経発生、分子生物学の研究者が多く、光操作について習熟している班員は多くない。そこで、全班員に、どのような技術支援を希望するかアンケート調査を行ったところ、光イメージングや光操作技術の現状を理解したいという意見が最多であった。そこで、総括班で議論して、領域内講師（影山、森）と領域外の国内の代表的研究者（相沢、宮脇、池谷、八尾、松崎、山中）による班員と若手の同伴者への技術講演会を行った（平成24年6月7日、班員の旅費は総括班で支援）。この講演会により、光イメージングと光操作についての具体的理解が深まり、今後、自分の研究に取り入れたいと考える班員が増えたので、班員相互間での材料と技術提供等より具体的な支援活動を行っていく。

3) 研究代表者（山森）と計画班員（森）は、線虫の温度走性を制御する分子機構と霊長類（マーモセット）一次視覚野における網膜の光活動依存性的な遺伝子発現誘導制御に関わる分子の相違について、継続的な情報交換と討議を行っている。その結果、線虫走温性と霊長類一次視覚野で使われている分子に驚く程共通性が高いことが判った。今後は、これらの共通の分子がどのようにそれぞれの系に特化して使われているのか、更にその上で、その機能的制御にどのような共通性があるのかを比較検討することである。この議論に基づき、神経生物学のより広い視点から、大脳新皮質の構築とその制御機構を観ることが重要と考え、上記の関連2領域合同ワークショップと国際シンポジウムを企画した。

4) 平成23、24年度の公募研究募集により24名の公募班員を採択した。そのうち14名は若手の准教授（4名）、助教（6名）、研究員（4名）である。これらの若手の公募班員と既に確立した研究組織を持つ計画班員が上述した領域活動の中で、研究発表や情報交換を積極的に行い、国際的にも新しく独自である日本におけるこの分野の形成が進んでいる。平成24年3月に開催した国際シンポジウムでは、外国人招待講演者から、これらの点についても高い評価を得た。神経科学分野における大脳新皮質構築領域外の研究との連携の取り組みは、上述した通りである。神経科学以外では、バイオフィォマテックスの若手研究者（2名）を公募班員として採択し、異分野との取り組みを行っている。

平成23年3月11日の東日本大震災では、領域内の東北大学・筑波大学の研究者を中心に甚大な被害が出た。これに対して、領域として何らかの支援が必要と考えて、具体的な方策を考えたが、大学共同利用機関による震災被災者に対する共同研究支援等、各研究者の所属する機関での対応はあったが、領域全体として、直ちに予算を執行して対応することは困難であった。しかし、

その後、追加配分が年度内にあった際、囁かではあったが、一定の配慮をすることができた。東日本大震災復興の課題は、全日本的課題であるが、班会議の開催地の決定等を含めて、当領域としても、可能な限り今後も努力して行きたい。

6. 主な研究成果（発明及び特許を含む）

A01 研究項目

神経幹細胞は、初めに対称分裂により増殖するが、やがて非対称分裂を繰り返していろいろな種類のニューロンを産生する。ニューロン産生が終わると、神経幹細胞は最後にアストロサイトに分化する。このように、神経幹細胞は時間とともに性質を変えて多彩な細胞を産生し、脳神経系の多様性形成に大きく貢献するが、この経時的変化を制御する分子機構はよくわかっていない。影山は、転写抑制因子 Hes1 が神経幹細胞の維持に必須であること、神経幹細胞では Hes1 の発現が約 2～3 時間周期で振動すること、この発現振動によって下流遺伝子の発現が変化することを示した（図 1）。これらのことから、Hes1 の発現振動によって神経幹細胞の性質が経時的に変化する可能性が考えられた。そこで、発生の進行とともに発現が変化する遺伝子を探索したところ、ヒストン H3K7 メチル化酵素である ESET を同定した。この因子は、9.5 日胚の神経幹細胞に強く発現するが、発生の進行とともに減少し、17.5 日胚の神経幹細胞にはきわめて少量しか発現していなかった（図 1）。また、ESET のプロモーターには Hes1 の結合部位が多数あり、Hes1 によって発現が徐々に低下する可能性が示唆された。前脳特異的 ESET 欠損マウスでは、初期に分化するニューロンの形成が強く阻害され、アストロサイトの形成は正常よりも亢進していた。以上から、ESET は徐々に発現低下することによって、ニューロン形成からアストロサイト形成への移行のタイミングを制御すると考えられた（図 1）。

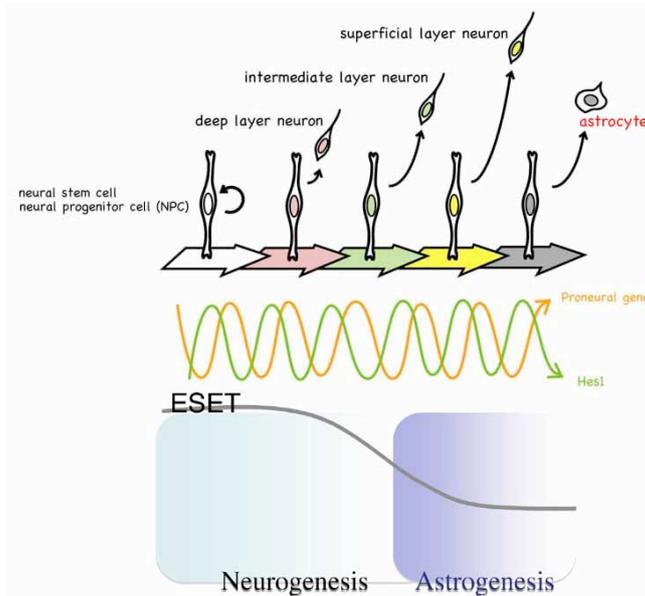


図 1：ESET の発現は、初期神経幹細胞では高く、後期には低下する。ESET の発現低下によってニューロン産生からアストロサイト産生に移行した。また、Hes1 の発現振動によって ESET の発現が徐々に低下する可能性が示唆された。

一方、脳室面で神経幹細胞がニューロンへと分化決定すると、数時間で脳室面から離れ、放射状繊維に沿って外側に移動してから成熟する。遅く生まれたニューロンは、早生まれのニューロンを追い越して外側に配置されるため、神経幹細胞の経時的な運命変化の順序（早い→遅い）が皮質内の空間的な配置の順序（内側→外側）に対応する。従って、多様なニューロンが皮質内で正確な配置を達成するためには、ニューロンへと分化決定したらすぐに移動を開始することが必須の要件となると考えられる。後藤は、ニューロン分化運命決定直後に移動を開始するメカニズムの解明を試みたところ、プロニューラル因子 Ngn1 や Ngn2 の下流で発現誘導される抑制性の二つの転写因子が新生ニューロンの移動開始に貢献していることを見いだした。これらの転写因子は、大脳新皮質においてニューロン分化運命決定とニューロン移動の開始を結ぶ因子であることが示唆された。さらに、ニューロン移動を開始させるメカニズムとして、Adherens Junction を構成する cadherin ファミリー分子の発現を抑制して上皮構造から離脱させることが示唆された。次に、ニューロン産生からグリア産生への移行に関与するメカニズムを探ったところ、クロマチン凝集状態に関わる転写因子 HMGA がポリコームによって発生時期依存的に抑制されること、

HMGA はグリア分化期に過剰発現するとニューロン分化能を再獲得させる能力があることが明らかになった (図2) (Kishi et al., Nat Neurosci, in press)。

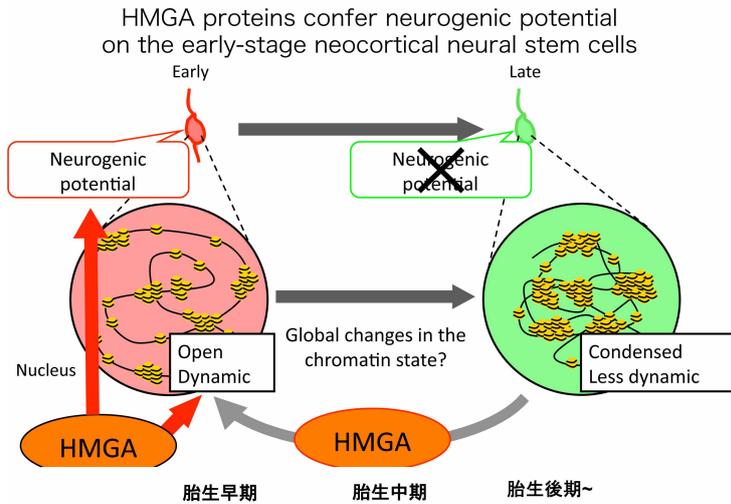


図2：ニューロン分化能を失った神経幹細胞にHMGAを過剰発現させると、クロマチン状態をグローバルに脱凝集させてニューロン分化能を取り戻した (Kishi et al., Nat Neurosci, in press)。

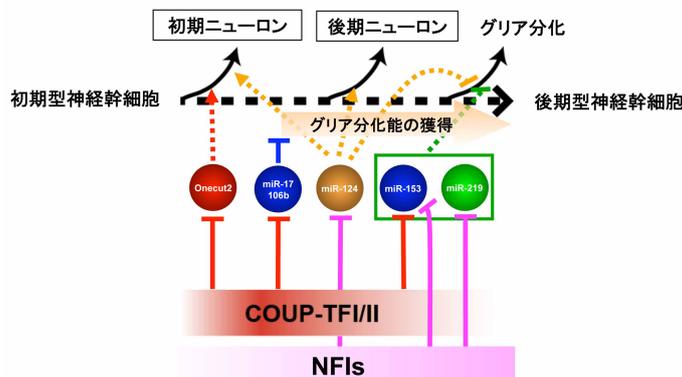


図3：Coup-TFI/IIの下流では、複数の転写因子とmicroRNAが協調的に働いてニューロン・グリア細胞産生のスイッチングを制御する。

ニューロン産生からグリア産生移行には、Coup-TFI/II が重要な役割を担う。島崎は、Coup-TFI/II がその下流遺伝子の発現をどのように調節し、時期依存的な神経・グリア細胞分化のスイッチングや神経細胞のサブタイプ形成を制御しているかを解明することを目的として、マウス ES 細胞分化系を利用した Coup-TFI/II の遺伝子ノックダウン実験と DNA マイクロアレイによる包括的遺伝子発現解析を行った。その結果、グリア産生能を獲得していない初期神経幹細胞に比べて、グリア産生能を持つ後期神経幹細胞での発現が有意 (>2倍) に高く、Coup-TFI/II によって発現が抑制される遺伝子群を多数同定することができた。さらに、抗 Coup-TFI/II 抗体を用いた ChIP-Seq 解析や in vitro での機能検定によるスクリーニングを行ったところ、Coup-TFI/II によって抑制される複数の microRNA (miR-17, 106b, 124, 153, 219) が神経・グリア細胞分化のスイッチングを阻害することがわかった。また、これらのうち miR-153 は、グリア分化誘導因子の1つである NFIA によってその発現が抑制された。これらの結果から、神経幹細胞の時期依存的な分化能制御のうち、神経・グリア細胞分化のスイッチングは、複数の転写因子と microRNA によって協調的に制御されることが明らかになった (図3)。

他にも、神経幹細胞の自己複製主体の分裂モードからニューロン産生主体の分裂モードへの移行に PAR3 が重要な役割を担うこと (廣瀬)、Wnt5a-Ror1/Wnt5a-Ror2 シグナルが Dishevelled2 を介してニューロン産生能を持った神経幹細胞の維持に働くこと (遠藤)、ニューロンサブタイプ産生の切り換えに Foxg1 が重要な役割を担うこと (花嶋)、Myc はグリア分化促進因子 Olig2 の発現を抑制することでニューロン産生を促進すること (長尾)、転写抑制因子 RP58 は Id1-4 の転写抑制によって p57 の発現を上昇させて細胞周期離脱を起こしてニューロン分化を促進すること (岡戸、EMBO J 2012)、DNA メチル化酵素 DNMT1 が後期ニューロン産生に関与すること (波平) などが明らかになった。

A02 研究項目

本新学術研究領域における A02 班の位置付けは、大脳新皮質構築の基本原理解明において、幹細胞から多様な神経細胞が産生される時期 (A01 項目) から、層・領野特異性決定 (A03 項目) の間をつなぎ、層特異的神経細胞と神経投射の関連を明らかにすることにある。

層特異的神経細胞の分化に関して、大隅は、神経幹細胞において発現し、幹細胞の維持とニューロン分化のバランスを制御する転写制御因子 *Pax6* を中心とした分子機構の解明に取り組んだ。その結果、*Pax6* の下流因子として同定した転写制御因子 *Dmrt1* が、プロニューラル因子である *Neurogenin2* を誘導し、*Ascl1* を抑制するとともに、大脳新皮質でもっとも表層に位置するカハール・レチウス細胞の産生に関わることを示した。また、神経幹細胞の非対称分裂時における *Cyclin D2* の非対称な分配が、娘細胞の運命決定に関わることを明らかにした (Tsunekawa et al., EMBO J 2012) (図 4)。中島は、妊娠 12~14 日マウスにヒストン脱アセチル化酵素阻害剤であ

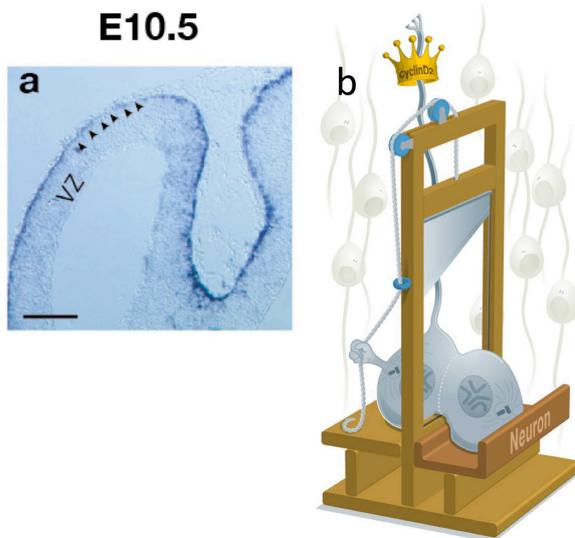


図 4 : 大脳新皮質神経前駆細胞の非対称分裂と細胞運命決定メカニズム。Cyclin D2 の mRNA (a) は終脳の基底膜側 (脳表面側) に局在し、局所的に翻訳され、非対称分裂の際に基底突起を受け継ぐ娘細胞に分配されることにより、その細胞が神経幹細胞として維持され、もう片方の細胞が神経細胞へと分化することに働く (b、EMBO J のハイライト記事より)。

るバルプロ酸を 1 回/日で経口投与した結果、深層ニューロンが減少し、代わりに II/III 層の浅層ニューロンが増加することを明らかにした (Neurosci Res 2012)。野田は、がん抑制活性を持つ GPI アンカー型糖タンパク質 *RECK* 遺伝子の発現を高める化合物を複数見出すとともに (Oncotarget 2010)、大脳新皮質構築における細胞外マトリックスや細胞表面分子、また、それらの分解調節系の役割に洞察を加えることを目的として、時期および場所特異的な各種 *Reck* 遺伝子変異マウスを作製しつつある。

神経軸索の投射に関しては、貝淵は、軸索形成を制御する分子のスクリーニングを行い、神経成長因子によって刺激された突起先端で一過性な Ca^{2+} の上昇とそれに伴う *CaMKK-CaMK I* 経路の活性化が軸索形成を誘導することを明らかにした (Sci Signal 2011)。古泉は、脳形成異常の原因遺伝子産物であるダブルコルチンと協調的に脳神経回路形成に関与するダブルコルチン様キナーゼの新規基質 *MAP7D1* を同定し、神経突起伸長に関与していることを明らかにした。眞田は、大脳新皮質における錐体細胞の配向を司るシグナリング経路を解析した結果、細胞のアピカ

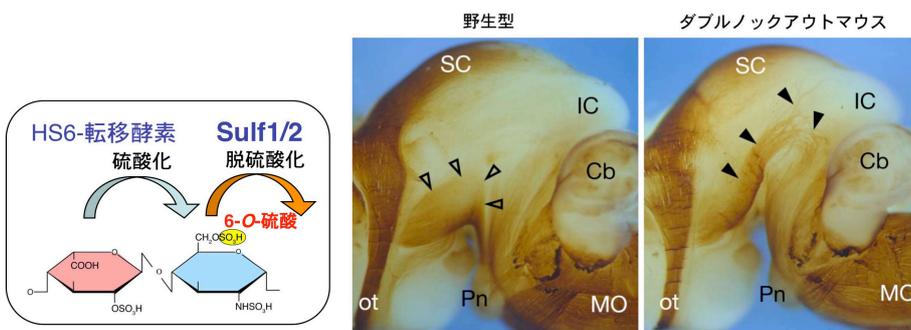


図 5 : ヘパラン硫酸脱硫酸化酵素 *Sulf1/2* 遺伝子を欠損したマウスでは、軸索ガイダンス分子の局在が変化した結果、皮質脊髄路に特徴的な異常が生じる。

ル側から主樹状突起が正しく伸展するのに、神経栄養因子 *BDNF* が必須であり、その下流経路として、*LKB1* の活性化および *GSK3β* の不活化が寄与していることを見出した。

回路形成の分子メカニズムに関しては、梶は、ヘパラン硫酸の6位の硫酸基を脱硫酸化するスルファターゼ Sulf1/Sulf2 が、ヘパラン硫酸糖鎖の修飾を介して軸索ガイダンス分子の局在を変化させ、皮質脊髄路の形成を制御していることを明らかにした (図5)。小野は、視床皮質回路の形成に、間脳の領域化、とりわけ prethalamus と eminentia thalami の形成が必須で、この間脳領域に何らかのガイダンスシグナルがあることを見出し、この領域化は転写因子 Olig2 により制御を受けていることも明らかにした。また、視床皮質路形成に関して、新明は、軸索ガイダンス分子 draxin の遺伝子ノックアウトマウスにおいて大脳新皮質特異的に draxin 発現を誘導した結果、視床皮質軸索の投射異常が一部回復することを見出し (J Neurosci 2011)、大隅の分担研究者である須藤は、軸索ガイド分子セマフォリンとその受容体プレキシンが嗅球や網膜の軸索投射や層形成に関係することに基づき (Cell 2011; Neuron 2010)、セマフォリンとプレキシンがそれぞれ視床における異なる核において発現することにより、皮質における投射先が分かれる可能性があることを明らかにした。西原は、大脳新皮質の左右半球を結ぶ脳梁の神経細胞において SINE 由来配列の1つが Satb2 発現を誘導するエンハンサーであることを示し (PLoS ONE 2011)、さらに複数の SINE 配列に転写因子 Nfix が結合することで発現制御配列として機能する可能性を見出した。一方、田川は、神経活動に依存した大脳新皮質回路構築メカニズムを明らかにする目的で、生後初期の大脳新皮質神経活動を抑制・亢進させる独自の実験系を確立し、生後初期の神経活動が異常

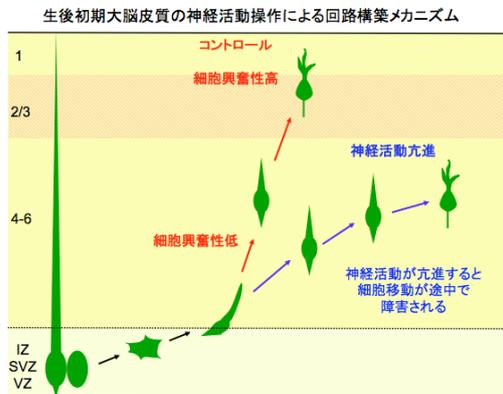


図6：生後初期大脳皮質の神経活動操作による回路構築メカニズム。神経活動が亢進すると細胞移動が障害されることを見いだした。移動途中では、興奮性が低く保たれることが重要であると考えられる。

に亢進するとニューロンの移動が障害され、皮質回路構築に異常が生じることを見いだした (図6) (Eur J Neurosci, in press)。

A03 研究項目

大脳新皮質は、形態・機能の異なる細胞が、層・コラム・領野などの多様な階層性を持つ構造へと組織化され、高度な情報処理を可能とする場であり、ここでの発現する分子がこれらの、機能とどのように関わるのかを理解することが、本研究領域の基本的目標である。発足以来、以下

Synapse Organizers in the Brain

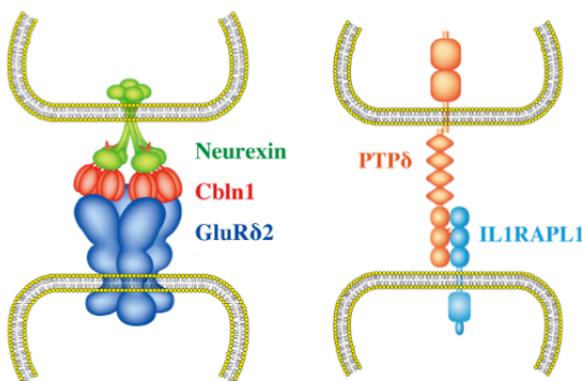


図7：小脳では、後シナプス部にある GluRδ2 が Cbln1 を介して前シナプス部にある Neurexin と相互作用することによりシナプスを形成する (左図: Cell, 2010)。一方大脳皮質では、後シナプスにある IL1RAPL1 と前シナプスにある PTPδの相互作用によって、シナプス形成が起こる (J Neurosci 2011)

の研究成果が上がった。

計画研究では、三品が、中枢神経系のシナプス形成機構について、大きな進歩を達成した。即ち、小脳シナプスでは、グルタミン酸受容体 *GluRδ2* がシナプス前部の β -*Neurexin* と *Cbln1* を介して結合することにより小脳シナプス形成を誘導することを明らかにした (図 7) (Cell 2010)。更に、非症候性 X 染色体連鎖精神遅滞や自閉症の原因遺伝子として報告されている *IL1-receptor accessory protein-like 1 (IL1RAPL1)* がシナプス前部にある *PTPδ* と結合することによって、大脳新皮質のシナプス形成を制御していることを明らかにした (図 7) (J Neurosci 2012)。この研究により、小脳と大脳という脳の主要な部位でそれぞれ、異なる分子によってシナプス形成が誘導されることが明らかになり、大脳新皮質神経細胞の機能的特徴を考える上で、重要な基本的情報であると考えられる。

山森は、RLSC 法により同定した霊長類の代表的領野差発現パターンを示すものの中から、新たに *SLIT1* が成熟日本ザル連合野特異的発現パターンを示すことを報告した (図 8)。成熟ニホンザル連合野では、*SLIT1* とその受容体である *ROBO1,2* が 3 層の同じ錐体細胞で発現している (Sasaki et al., Cereb Cortex 2010)。Whitford ら (2002) は、マウスの大脳新皮質で、*SLIT1* と *ROBO* の共発現が樹状突起の形成を促進するという報告をしており、同様の役割を *SLIT1* が霊長類連合野でも果たす可能性が示唆された (Prog Neurobiol 2011)。一方、視覚野特異的に発現する遺伝子群は、*5HT1B*、*5HT2A* の霊長類一次視覚野における解析から、それぞれ、S/N 比の増大とそのゲインを補正するゲインコントローラーであることがわかっており、夜と昼で、 10^7 以上も違う光量変化に対して視覚の恒常性を維持するのに貢献していると考えられる。最近、げっ歯類後根神経節で *OCC1* の相同遺伝子 *Fstl1* が多く発現しており、*Na-K-ATPase* と直接結合し、感覚刺激によるシナプス伝達を制御していることが他のグループから報告された。しかし、*OCC1* は霊長類一次視覚野興奮性細胞では、強い活動依存的遺伝子発現制御を受けるが *Fstl1* の遺伝子発現は、げっ歯類では、活動依存的な制御を受けない。原猿 (Galago)、新世界ザル (Owl monkey, marmoset)、旧世界ザル (Macaca) で視覚野特異的発現様式を検討し、各遺伝子の一次視覚野特異的発現と活動依存的発現は、原猿、新世界ザルでそれぞれ異なり、マカカ属では、領野特異性と活動依存性が最も顕著であり、霊長類の視覚野の進化と良く対応していると考えられることを、高畑博士と Kaas 博士の共同研究で明らかにした (Cereb Cortex 2011)。霊長類の視覚野形成に関わると考えられる遺伝子の発現制御機構とその機能を明らかにする為、マーモセットで実験系を立ち上げた。この系を用いて、網膜への光照射直後数分以内からのマーモセット一次視覚野における遺伝子発現を層・細胞種特異的な時間経過を詳細に解析し、マーモセット一次視覚野固有と考えられる新規遺伝子発現機構の存在を明らかにした (投稿準備中)。

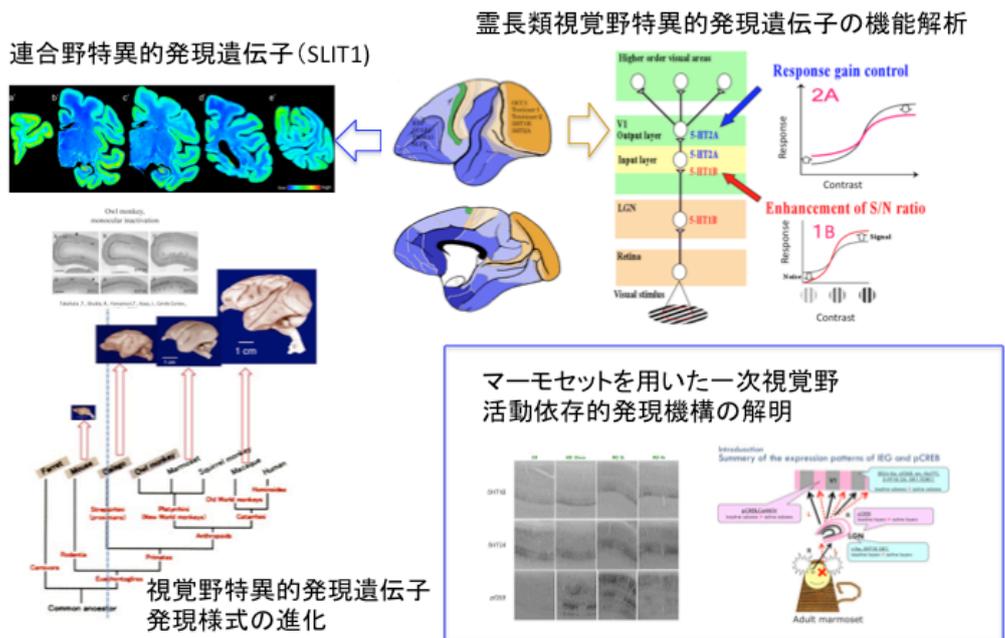


図 8：領野・層発現分子の機能的意義の解明

1) 霊長類連合野特異的発現遺伝子 *SLIT1* の報告 (Sasaki et al., 2010、左上図)。

2) 霊長類視覚野特異的発現セロトニン受容体 5HT1B と 5HT2A の機能解析の結果、5HT1B は前シナプス部において S/N 比を増大させ、5HT2A は、主に後シナプス部において、そのゲイン補正をしていると考えられる (右上図)。この2つの組み合わせによってより鮮明な視覚像が得られると考えられるが、霊長類の進化に伴う視覚野特異的発現遺伝子の発現様式の進化を調べたところ、原猿、新世界ザル、旧世界ザルでその領野特異性と活動依存的発現様式が異なることが判った (Takahata et al., 2011、左下図)。その為、マーモセット視覚野における活動依存的遺伝子発現の制御機構解明系の確立し活動依存的に発現する分子を明らかにした (投稿準備中、右下図)。

森は、線虫走温性の温度受容神経 AFD と AWC が VGLUT 依存的なグルタミン放出に対してそれぞれ促進と抑制という相反する神経シグナル伝達を引き起こすことを発見した (Nat Commun 2011; EMBO J 2011)。次に、第二の温度受容ニューロンである AWC から AIY への VGLUT に依存しない興奮性シナプス伝達に関与する分子を同定することを試み、代謝型グルタミン酸受容体 (MGL) の変異体である *mgl-1*; *mgl-3* 二重変異体と *mgl-1*; *mgl-2*; *mgl-3* 三重変異体が、高温で飼育した場合に温度走性異常を示すことがわかった。*mgl-1*; *mgl-2*; *mgl-3* 三重変異体の示す温度走性異常は、*mgl-3* cDNA を感覚ニューロンで発現させることにより、回復することがわかった。また、温度勾配上において、過去に飼育されていた温度に対して異常に移動する変異から、これに関与する分子を解明した (Nature Neurosci 2011; EMBO reports 2011)。更に、温度勾配上において、過去に飼育されていた温度より約 1 °C 高い温度へ移動する異常を示す原因遺伝子の同定を試みたところ、無脊椎動物において、ギャップ結合を形成するイネキシシン (INX-4) であることがわかった。この変異体の異常は、INX-4 を AFD 温度受容ニューロンに発現させることにより回復した。AFD における INX-4 の局在を調べたところ、シナプスに局在することを示唆する結果を得た。また最近、カルシウムイメージングを行ったところ、AFD の温度変化に対する活動性は、野生株と *inx-4* 変異体で変化はなかった。しかし、AFD のシナプス後ニューロンである AIY の温度変化に対する活動性は、野生株とより、*inx-4* 変異体の方が高いという結果を得た。今後、この結果をより詳細に解析する予定である。

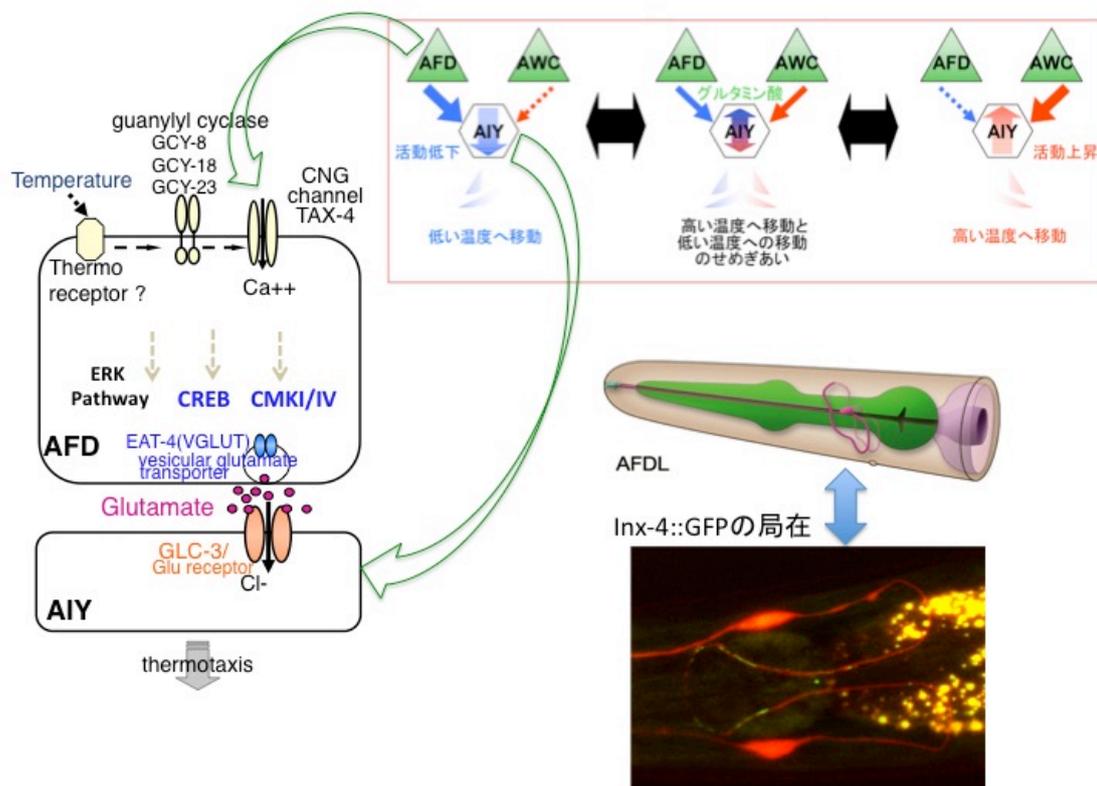


図 9 : 線虫における温度走性神経細胞とシグナル伝達物質の解明。AFD と AWC は2つの異なる温度感受性神経細胞であり相反するシグナルを介在神経細胞 AIY に伝達すると考えられる。飼

育されていた温度より約 1 °C 高い温度へ移動する異常を示す原因遺伝子の同定を試みたところ、無脊椎動物において、ギャップ結合を形成するイネキシン (INX-4) であることが判った。INX-4 の AFD における局在を示す (右下図)。

公募班員の主な研究結果として、村上は、皮質介在ニューロンの標識を子宮内電気穿孔法で行い、同じ progenitor から生まれる細胞がニューロンに分化するまでに分裂する回数の違いによって異なる運命を辿る可能性を支持する結果を得た (J Neurosci 2012)。現在これらの標識細胞の分布と誕生日、発現分子との関係、子宮内電気穿孔の時期との関係について検討を進めている。更に、辺縁帯の Cajal-Retzius 細胞 (CR 細胞) とサブプレート細胞 (SP 細胞) は大脳新皮質の発達において最も早生まれとなるが、GABA は興奮性に作用することが報告されている。一般的に神経細胞では成熟につれて Cl⁻ トランスポーター KCC2 の発現上昇がおこり、細胞内の Cl⁻ 濃度 ([Cl⁻]_i) が低下するが、KCC2 は発現調節の他、種々のリン酸化によってその活性が修飾される。井上等は、タウリンが WNK-SPAK/OSR1 シグナルを介して KCC2 の特定のスレオニン残基のリン酸化し、その活性を抑制することを発見した。その結果、タウリンは [Cl⁻]_i を変化し発達期大脳新皮質における神経細胞の移動に影響を与えることを見出した (J Biol Chem 2012)。タウリンは発達期大脳新皮質、特に SP 領域周辺に多量に存在することから、早生まれの CR 細胞や SP 細胞では KCC2 が発現しており、タウリンによるその活性調節が GABA の興奮性を導くのではないかという仮説を立て、その検討を行ったところ、予期に反して、SP 領域の細胞では皮質板の細胞に比べ [Cl⁻]_i が低下しており、組織学的所見と一致し KCC2 の活性があることが示唆された。膜特性などからも過去の報告で検討されている早熟の SP 細胞と同種の細胞に焦点を当てていることが示唆されるが、この結果は、過去の報告および当初の仮説と異なっており、検証を行っているところである。日置は、大脳新皮質の構造的基盤である局所神経回路、そしてその形成メカニズムについての解析を深める為、parvalbumin (PV) 発現抑制性神経細胞に焦点を当て、抑制性神経細胞が備えるシナプス結合様式のルール、および特異的シナプス結合を形成・維持するメカニズムの解明を行い、PV 細胞の樹状突起は抑制性入力約 60% を PV 細胞から、細胞体は約 62% を VIP 細胞から受けること示し、PV 細胞は樹状突起・細胞体という 2 つのコンパートメントにおいて、抑制性入力様式が異なることを明らかにした (Eur J Neurosci 2012)。

最後に、山森と森は、領域発足以来、線虫走温性と霊長類一次視覚野遺伝子の活動依存的遺伝子発現の共通性について議論を重ねてきたが、2 つの系で驚くほどの共通性があることが判ってきた。現在、それぞれの系の解析をより詳細に行うことによって、その共通性とシステム固有な機能への分岐点を具体的に明らかにしたいと考えている。

7. 研究成果の公表の状況

(1) 主な論文等一覧について

計画班員 (過去 2 年間) と公募班員 (過去 1 年間) が発表した論文等は、英文原著論文 148 報、英文総説 16 報、英文著書 13 報、和文原著論文 2 報、和文総説 33 報、和文著書 3 報であった。一流の学術雑誌 (括弧内は最新の Impact factor) に発表された主要論文は、Nature (36.104) 1 報、Nature Neuroscience (14.191) 5 報、Cell (32.4069) 3 報、Neuron (14.027) 1 報、Genes & Development (12.889) 1 報、EMBO J (10.124) 4 報、EMBO reports (7.822) 1 報、EMBO Molecular Medicine (8.833) 2 報、Proc Natl Acad Sci USA (9.771) 5 報、Journal of Neuroscience (7.271) 11 報、Cerebral Cortex (6.844) 4 報、Development (6.898) 4 報、Stem Cells (7.871) 6 報、Journal of Biological Chemistry (5.328) 5 報が挙げられる。これら主要論文の Impact Factor の合計は、568.249 に達し、単純な比喩として Nature 論文 16 報に相当する。

主な論文発表 (英文原著論文) は、以下の通りである (研究代表者は二重下線、研究分担者は一重下線、corresponding author は*で示す)。

計画班員
影山龍一郎

*Kobayashi, T. & *Kageyama, R. Hes1 regulates embryonic stem cell differentiation by suppressing Notch signaling. *Genes Cells* **15**, 689-698 (2010).

Shimizu, T., Nakazawa, M., Kani, S., Bae, Y.-K., Shimizu, T., Kageyama, R., & *Hibi, M. Zinc-finger

genes *Fezf1* and *Fezf2* control neuronal differentiation by repressing *Hes5* expression in forebrain. *Development* **137**, 1875-1885 (2010).

Ikeda, K., Kageyama, R., Suzuki, Y., & *Kawakami, K. Six1 is indispensable for production of functional progenitor cells during olfactory epithelial development. *Int. J. Dev. Biol.* **54**, 1453-1464 (2010).

Takashima, Y., Ohtsuka, T., González, A., Miyachi, H., & *Kageyama, R. Intronic delay is essential for oscillatory expression in the segmentation clock. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **108**, 3300-3305 (2011).

Tateya, T., Imayoshi, I., Tateya, I., Ito, J., & *Kageyama, R. Cooperative functions of *Hes/Hey* genes in auditory hair cell and supporting cell development. *Dev. Biol.* **352**, 329-340 (2011).

Matsumoto, A., Onoyama, I., Sunabori, T., Kageyama, R., Okano, H., & *Nakayama, K.I. Fbxw7-dependent degradation of Notch is required for control of symmetry and neuronal-glia differentiation in neural stem cells. *J. Biol. Chem.* **286**, 13754-13764 (2011).

Sakamoto, M., Imayoshi, I., Ohtsuka, T., Yamaguchi, M., Mori, K., & *Kageyama, R. Continuous neurogenesis in the adult forebrain is required for innate olfactory responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **108**, 8479-8484 (2011).

Niwa, Y., Shimojo, H., Isomura, A., González, A., Miyachi, H., & *Kageyama, R. Different types of oscillations in Notch and Fgf signaling regulate the spatiotemporal periodicity of somitogenesis. *Genes & Dev.* **25**, 1115-1120 (2011).

Shibata, K., Yamada, H., Sato, T., Dejima, S., Nakamura, M., Ikawa, T., Hara, H., Yamasaki, S., Kageyama, R., Iwakura, Y., Kawamoto, H., Toh, H., & *Yoshikai, Y. Notch-Hes1 pathway induces IL-17-producing T cells. *Blood* **118**, 586-593 (2011).

*Ohtsuka, T., Shimojo, H., Matsunaga, M., Watanabe, N., Kometani, K., Minato, N., & Kageyama, R. Gene expression profiling of neural stem cells and identification of regulators of neural differentiation during cortical development. *Stem Cells* **29**, 1817-1828 (2011).

Ueo, T., Imayoshi, I., Kobayashi, T., Ohtsuka, T., Seno, H., Nakase, H., Chiba, T., & *Kageyama, R. The role of *Hes* genes in intestinal development, homeostasis and tumor formation. *Development* **139**, 1071-1082 (2012).

Sparrow, D.B., Chapman, G., Smith, A.J., Mattar, M.Z., Major, J.A., O'Reilly, V.C., Saga, Y., Zackai, E.H., Dormans, J.P., Alman, B.A., McGregor, L., Kageyama, R., Kusumi, K., & *Dunwoodie, S.L. A mechanism for gene-environment interaction in the etiology of congenital scoliosis. *Cell* **149**, 295-306 (2012).

*Imayoshi, I., Hirano, K., Sakamoto, M., Miyoshi, G., Imura, T., Kitano, S., Miyachi, H., & Kageyama, R. A multifunctional teal-fluorescent Rosa26 reporter mouse line for Cre- and Flp-mediated recombination. *Neurosci. Res.* **73**, 85-91 (2012).

*Imayoshi, I., Hirano, K., Kitano, S., Mitachi, H., & Kageyama, R. In vivo evaluation of PhiC31 recombinase activity in transgenic mice. *Neurosci. Res.* **73**, 106-114 (2012).

Horn, S., Kobberup, S., Jørgensen, M.C., Kalisz, M., Klein, T., Kageyama, R., Gegg, M., Lickert, H., Lindner, J., Magnuson, M.A., Kong, Y.-Y., *Serup, P., *Ahnfelt-Rønne, J., & Jensen, J.N. *Mind bomb 1* is required for pancreatic beta-cell formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **109**, 7356-7361 (2012).

*Imayoshi, I., Tabuchi, S., Hirano, K., Sakamoto, M., Kitano, S., Miyachi, H., Yamanaka, A., & Kageyama, R. Light-induced silencing of neural activity in Rosa26 knock-in mice conditionally expressing the microbial halorhodopsin eNpHR2.0. *Neurosci. Res.* in press.

後藤由季子

*Miyata, T., Kawaguchi, D., Kawaguchi, A., & *Gotoh, Y. Mechanisms that regulate the number of neurons during mouse neocortical development. *Curr. Opin. Neurobiol.* **20**, 22-28 (2010).

Kuwahara, A., *Hirabayashi, Y., Knoepfler, P.S., Taketo, M.M., Sakai, J., Kodama, T., & *Gotoh, Y. Wnt signaling and its downstream target N-myc regulate basal progenitors in the developing neocortex. *Development* **137**, 1035-1044 (2010).

Ip, J.P., Shi, L., Chen, Y., Itoh, Y., Fu, W.Y., Betz, A., Yung, W.H., Gotoh, Y., Fu, A.K., & *Ip, N.Y. α 2-chimaerin controls neuronal migration and functioning of the cerebral cortex through CRMP-2. *Nat. Neurosci.* **15**, 39-47 (2011).

Watatani, K., Hirabayashi, Y., Itoh, Y., & *Gotoh, Y. PDK1 regulates the generation of oligodendrocyte precursor cells at an early stage of mouse telencephalic development. *Genes Cells.* **17**, 326-335 (2012).

Hirabayashi, Y., & *Gotoh, Y. Epigenetic control of neural precursor cell fate during development. *Nat. Rev. Neurosci.* **11**, 377-388 (2010).

Kishi, Y., Fujii, Y., Hirabayashi, Y. and *Gotoh, Y. HMGA proteins regulate global chromatin state and the neurogenic potential in neocortical precursor cells. *Nat. Neurosci.* in press.

島崎琢也

Tao, O., Shimazaki, T., Okada, Y., Naka, H., Kohda, K., Yuzaki, M., Mizusawa, H., & *Okano, H. Efficient generation of mature cerebellar Purkinje cells from mouse embryonic stem cells. *J. Neurosci. Res.* **88**, 234-247 (2010).

Ishii, S., Okada, Y., Kadoya, T., Matsuzaki, Y., Shimazaki, T., & *Okano, H. Stromal cell-secreted factors promote the survival of embryonic stem cell-derived early neural stem/progenitor cells via the activation of MAPK and PI3K-Akt pathways. *J. Neurosci. Res.* **88**, 722-734 (2010).

Sakaguchi, M., Imaizumi, Y., Shingo, T., Tada, H., Hayama, K., Yamada, O., Morishita, T., Kadoya, T., Uchiyama, N., Shimazaki, T., Kuno, A., Poirier, F., Hirabayashi, J., Sawamoto, K., & *Okano, H. Regulation of adult neural progenitor cells by Galectin-1/beta1 Integrin interaction. *J. Neurochem.* **113**, 1516-1524 (2010).

Sato, T., Shimazaki, T., Naka, H., Fukami, S., Satoh, Y., Okano, H., Lax, I., Schlessinger, J., & *Gotoh, N. FRS2 α regulates Erk levels to control a self-renewal target Hes1 and proliferation of FGF-responsive neural stem/progenitor cells. *Stem Cells.* **28**, 1661-1673 (2010).

野田亮

Chandana, E. P., Maeda, Y., Ueda, A., Kiyonari, H., Oshima, N., Yamamoto, M., Kondo, S., Oh, J., Takahashi, R., Yoshida, Y., Kawashima, S., Alexander, D. B., Kitayama, H., Takahashi, C., Tabata, Y., Matsuzaki, T., & *Noda, M. Involvement of the Reck tumor suppressor protein in maternal and embryonic vascular remodeling in mice. *BMC Dev. Biol.* **10**, 84 (2010).

Kimura, T., Okada, A., Yatabe, T., Okubo, M., Toyama, Y., Noda, M., & *Okada, Y. RECK is up-regulated and involved in chondrocyte cloning in human osteoarthritic cartilage. *Am. J. Pathol.* **176**, 2858-2867 (2010).

Kitajima, S., Miki, T., Takegami, Y., Kido, Y., Noda, M., Hara, E., Shamma, A., & *Takahashi, C. Reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs interferes with epidermal growth factor receptor signaling. *Oncogene* **30**, 737-750 (2010).

Loayza-Puch, F., Yoshida, Y., Matsuzaki, T., Takahashi, C., Kitayama, H., & *Noda, M. Hypoxia and RAS-signaling pathways converge on, and cooperatively downregulate, the RECK tumor-suppressor protein through microRNAs. *Oncogene* **29**, 2638-2648 (2010).

Matsumoto, N., Taguchi, A., Kitayama, H., Watanabe, Y., Ohta, M., Yoshihara, T., Itokazu, Y., Dezawa, M., Suzuki, Y., Sugimoto, H., Noda, M., & *Ide, C. Transplantation of cultured choroid plexus epithelial cells via cerebrospinal fluid shows prominent neuroprotective effects against acute ischemic brain injury in the rat. *Neurosci. Lett.* **469**, 283-288 (2010).

Miki, T., Shamma, A., Kitajima, S., Takegami, Y., Noda, M., Nakashima, Y., Watanabe, K., & *Takahashi, C. The beta1-integrin-dependent function of RECK in physiologic and tumor angiogenesis. *Mol. Cancer Res.* **8**, 665-676 (2010).

Murai, R., Yoshida, Y., Muraguchi, T., Nishimoto, E., Morioka, Y., Kitayama, H., Kondoh, S., Kawazoe, Y., Hiraoka, M., Uesugi, M., & *Noda, M. A novel screen using the Reck tumor suppressor gene promoter detects both conventional and metastasis-suppressing anticancer drugs. *Oncotarget* **1**, 252-264 (2010).

Wang, H., Imamura, Y., Ishibashi, R., Chandana, E. P., Yamamoto, M., & *Noda, M. The Reck tumor suppressor protein alleviates tissue damage and promotes functional recovery after transient cerebral ischemia in mice. *J. Neurochem.* **115**, 385-398 (2010).

Yamamoto, M., Matsuzaki, T., Takahashi, R., Adachi, E., Maeda, Y., Yamaguchi, S., Kitayama, H., Echizenya, M., Morioka, Y., Alexander, D. B., Yagi, T., Itohara, S., Nakamura, T., Akiyama, H., & *Noda, M. The transformation suppressor gene Reck is required for postaxial patterning in mouse forelimbs. *Biology Open* **1**, 458-466 (2012).

Yoshida, Y., Ninomiya, K., Hamada, H., & *Noda, M. Involvement of the SKP2-p27(KIP1) pathway in suppression of cancer cell proliferation by RECK. *Oncogene*, in press.

榎正幸

Nagamine, S., Keino-Masu, K., Shiomi, K., & *Masu, M. Proteolytic cleavage of the rat heparan sulfate 6-O-endosulfatase SulFP2 by furin-type proprotein convertases. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **391**, 107-112 (2010).

Koike, S., Keino-Masu, K., & *Masu, M. Deficiency of autotaxin/lysophospholipase D results in head

cavity formation in mouse embryos through the LPA receptor-Rho-ROCK pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **400**, 66-71 (2010).

Yamazoe, H., Keino-Masu, K., & *Masu, M. Combining the Cell Encapsulation Technique and Axon Guidance for Cell Transplantation Therapy. *J. Biomaterial Sci.* **21**, 1815-1826 (2010).

Koike, S., Yutoh, Y., Keino-Masu, K., Noji, S., *Masu, M., & *Ohuchi, H. Autotaxin is required for the cranial neural tube closure and establishment of the midbrain-hindbrain boundary during mouse development. *Dev. Dyn.* **240**, 413-421 (2011).

Terawaki, S., Yano, K., Katsutani, T., Shiomi, K., Keino-Masu, K., Masu, M., Shomura, Y., Komori, H., Shibata, N., & *Higuchi, Y. Crystallographic characterization of the DIX domain of the Wnt signalling positive regulator Ccd1. *Acta Crystallographica* **F67**, 758-761 (2011).

Kamijo, H., Matsumura, Y., Thumkeo, D., Koike, S., Masu, M., Shimizu, Y., Ishizaki, T., & *Narumiya, S. Impaired vascular remodeling in the yolk sac of embryos deficient in ROCK-I and ROCK-II. *Genes Cells.* **16**, 1012-1021(2011).

Nagamine, S., Tamba, M., Ishimine, H., Araki, K., Shiomi, K., Okada, T., Ohto, T., Kunita, S., Takahashi, S., Wismans, R.G.P., van Kuppevelt, T.H., *Masu, M., & Keino-Masu, K. Organ-Specific Sulfation Patterns of Heparan Sulfate Generated by Extracellular Sulfatases Sulf1 and Sulf2 in Mice. *J. Biol. Chem.* **287**, 9579-9590 (2012).

Nikitopoulou, I., Oikonomou, N., Karouzakis, E., Sevastou, I., Nikolaidou-Katsaridou, N., Zhao, Z., Mersinias, V., Armaka, M., Xu, Y., *Masu, M., Mills, G. B., Gay, S., Kollias, G., & Vassilis Aidinis. Autotaxin expression from synovial fibroblasts is essential for the pathogenesis of modeled arthritis. *J. Exp. Med.* **209**, 925-933 (2012).

大隅典子

*Maekawa, M., Iwayama, Y., Arai, R., Nakamura, K., Ohnishi, T., Toyota, T., Tsujii, M., Okazaki, Y., Osumi, N., Owada, Y., Mori, N., & Yoshikawa, T. Polymorphism screening of brain-expressed FABPs7, 5 and 3 genes and association studies in autism and schizophrenia in Japanese subjects. *J. Hum. Genet.* **55**, 127-130 (2010).

Numayama-Tsuruta, K., Arai, Y., Takahashi, M., Sasaki-Hoshino, M., Funatsu N., Nakamura, S., & *Osumi, N. Downstream genes of Pax6 revealed by comprehensive transcriptome profiling in the developing rat hindbrain. *BMC Dev. Biol.* **18**, 6 (2010).

Nonomura, K., *Takahashi, M., Wakamatsu, Y. Takano-Yamamoto, T., & Osumi, N. Dynamic expression of Six family genes in the dental mesenchyme and the epithelial ameloblast stem/progenitor cells during murine tooth development. *J. Anat.* **216**, 80-91 (2010).

Takeuchi, H., Inokuchi, K., Aoki, M., Suto, F., Tsuboi, A., Matsuda, I., Suzuki, M., Aiba, A., Serizawa, S., Yoshihara, Y., Fujisawa, H., & *Sakano, H. Sequential arrival and graded secretion of Semaphorin 3F by olfactory neuron axons specify map topography at the bulb. *Cell* **141**, 1056-1067 (2010).

Takahashi, M. & *Osumi, N. The Method of Rodent Whole Embryo Culture using the Rotator-type Bottle Culture System. *J. Vis. Exp.* **42**, (2010).

Umeda, T., Takashima, N., Nakagawa, R., Maekawa, M., Ikegami, S., Yoshikawa, T., Kobayashi, K., Okanoya, K., Inokuchi, K., & *Osumi, N. Evaluation of Pax6 mutant rat as a model for autism. *Plos ONE* **5**, e15500 (2010).

*Kobayashi, K. Masuda, T. Takahashi, M. Miyazaki, J. Nakagawa, M. Uchigashima, M., watanabe, M., Yaginuma, H., Osumi, N. Kaibuchi, K., & Kobayashi, K. Rho/Rho-kinase signaling controls axon patterning of a specified subset of cranial motor neurons. *Eur. J. Neurosci.* **33**, 612-621 (2011).

*Takahashi, M., & Osumi, N. Pax6 regulates boundary-cell specification in the rat hindbrain. *Mech. Dev.* **128**, 289-302 (2011).

Sakayori, N., Maekawa, M., Numayama-Tsuruta, K., Katura, T., Moriya, T., & *Osumi, N. Distinctive effects of arachidonic acid and docosahexaenoic acid on neural stem/progenitor cells. *Genes Cells* **16**, 778-790 (2011).

Ono, M., *Suzawa, T., Takami, M., Miyauchi, T., Ogasawara, A., Yamada, A., Hosono, T., Arata, S., Miyamoto, Y., Baba, K., Nakamura, M., Osumi, N. Maki, K., & Kamijo, R. Identification and Isolation of Neural Crest Derived Cells in Nasal Concha. *Jpn. J. Tissue Cult. Dent. Res* **20**, 29-35 (2011).

Matsumoto, Y., Tsunekawa, Y., Nomura, T., Suto, F., Matsumata, M., Tsuchiya, S., & *Osumi, N. Differential Proliferation Rhythm of Neural Progenitor and Oligodendrocyte Precursor Cells in the Young Adult Hippocampus. *PLoS ONE* **6**, e27628 (2011).

Matsuoka, RL., Chivatakarn, O., Badea, TC., Samuels, IS., Cahill, H., Katayama, K., Kumar, SR., Suto, F., Chédotal, A., Peachey, NS., Nathans, J., Yoshida, Y., *Giger, RJ., & *Kolodkin, AL. Class 5

transmembrane semaphorins control selective Mammalian retinal lamination and function. *Neuron* **71**, 460-473 (2011).

Tsunekawa, Y., Britto, J.M., Takahashi, M., Polleux, F., Tan, S-S., & *Osumi, N. Cyclin D2 in the basal process of neural progenitors is linked to non-equivalent cell fates. *EMBO J.* **31**, 1879-1892 (2012).

Matsumata, M., Sakayori, N., Maekawa, M., Owada, Y., Yoshikawa, T., & *Osumi, N. The Effects of Fabp7 and Fabp5 on Postnatal Hippocampal Neurogenesis in the Mouse. *Stem Cells* (2012). (advanced online)

三品昌美

Mozhui, K., Karlsson, R-M., Kash, T. L., Ihne, J., Norcross, M., Patel, S., Farrell, M. R., Hill, E., Martin, K., Camp, M., Fitzgerald, P. J., Ciobanu, D. C., Sprengel, R., Mishina, M., Wellman, C. L., Winder, D. G., Williams, R. W., & *Holmes, A. Strain differences in stress responsivity are associated with divergent amygdala gene expression and glutamate-mediated neuronal excitability. *J. Neurosci.* **30**, 5357-5367 (2010).

Uemura, T., Lee, S., Yasumura, M., Takeuchi, T., Yoshida, T., Ra, M., Taguchi, R., Sakimura, K., & *Mishina, M. Trans-synaptic interaction of GluR δ 2 and neurexin through Cbln1 mediates synapse formation in the cerebellum. *Cell* **141**, 1068-1079 (2010).

Ohno, T., Maeda, H., Murabe, N., Kamiyama, T., Yoshioka, N., Mishina, M., & *Sakurai, M. Specific involvement of postsynaptic GluR2B-containing NMDA receptors in the developmental elimination of corticospinal synapses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107**, 15252-15257 (2010).

Hagino, Y., Kasai, S., Han, W., Yamamoto, H., Nabeshima, T., Mishina, M., & *Ikeda, K. Essential role of NMDA receptor channel ϵ 4 subunit (GluN2D) in the effects of phencyclidine, but not methamphetamine. *PLoS ONE* **5**, e13722 (2010).

Miyazaki, T., Yamasaki, M., Takeuchi, T., Sakimura, K., Mishina, M. & *Watanabe, M. Ablation of glutamate receptor GluR δ 2 in adult Purkinje cells causes multiple innervation of climbing fibers by inducing aberrant invasion to parallel fiber innervation territory. *J. Neurosci.* **30**, 15196-15209 (2010).

Hayashi, R., Nakazato, Y., Takamori, S., Ebihara, S., Uematsu, M., Mishina, M., Miyazaki, J., Yokoyama, M., Konishi, S., Inoue, K., Fukuda, A., Fukumoto, M., Nakamura, K., Obata, K., & *Yanagawa, Y. The physiological roles of vesicular GABA transporter during embryonic development: a study using knockout mice. *Mol. Brain* **3**, 40 (2010).

*Taniguchi, M. Masuda, T., Mikami, Y., Kimura, M., Yoshida, T., Mishina, M. & Shimizu, T. Identification and characterization of a novel zebrafish semaphorin. *Neurosci. Lett.* **488**, 215-220 (2011).

Larsen, R. S., Corlew, R. J., Henson, M. A., Roberts, A. C., Mishina, M., Watanabe, M., Lipton, S. A., Nakanishi, N., Pérez-Otaño, I., Weinberg, R. J., & *Philpot, B. D. NR3A-containing NMDA receptors promote neurotransmitter release and spike timing-dependent plasticity. *Nature Neurosci.* **14**, 338-344 (2011).

Yamasaki, M., Miyazaki, T., Azechi, H., Abe, M., Natsume, R., Hagiwara, T., Aiba, A., Mishina, M., Sakimura, K., & *Watanabe, M. Glutamate receptor δ 2 is essential for input pathway-dependent regulation of synaptic AMPAR contents in cerebellar Purkinje cells. *J. Neurosci.* **31**, 3362-3374 (2011).

Joo, J., Lee, S., Uemura, T., Yoshida, T., Yasumura, M., Watanabe, M., & *Mishina, M. Differential interactions of cerebellin precursor protein (Cbln) subtypes and neurexin variants for synapse formation of cortical neurons. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **406**, 627-632 (2011).

Kaneko, M., Yamaguchi, K., Eiraku, M., Sato, M., Takata, N., Kiyohara, Y., Mishina, M., Hirase, H., Hashikawa, T., & *Kengaku, M. Remodeling of monopolar Purkinje cell dendrites during cerebellar circuit formation. *PLoS ONE* **6**, e20108 (2011).

Biase, L. D., Kang, S., Potter, E., Fukaya, F., Pucak, M., Mishina, M., Calabresi, P., & *Bergles, D. NMDA receptor signaling in oligodendrocyte progenitors is not required for oligodendrogenesis and myelination. *J. Neurosci.* **31**, 12650-12662 (2011).

Yoshida, T., Yasumura, M., Uemura, T., Lee, S., Ra, M., Taguchi, R., Iwakura, Y., & *Mishina, M. IL1RAPL1 associated with mental retardation and autism mediates synapse formation by trans-synaptic interaction with PTP δ . *J. Neurosci.* **31**, 13485-13499 (2011).

Chen, X., Yoshida, T., Sagara, H., Mikami, Y., & *Mishina, M. Protein tyrosine phosphatase σ regulates the synapse number of zebrafish olfactory sensory neurons. *J. Neurochem.* **119**, 532-543 (2011).

Yoshida, T., Shiroshima, T., Lee, S., Yasumura, M., Uemura, T., Chen, X., Iwakura, T., & *Mishina, M. Neuronal isoform of an essential subunit of receptors for interleukin-1 family cytokines organizes synaptogenesis in the brain. *J. Neurosci.* **32**, 2588-2600 (2012).

Yasumura, M., Yoshida, T., Lee, S., Uemura, T., Joo, J., & *Mishina, M. Glutamate receptor δ 1 induces

preferentially inhibitory presynaptic differentiation of cortical neurons by interacting with neurexins through cerebellin precursor protein (Cbln) subtypes. *J. Neurochem.* **121**, 705–716 (2012).

Lee, S., Uemura, T., Yoshida, T., & *Mishina, M. GluR δ 2 assembles four neurexins into *trans*-synaptic triad to trigger synapse formation. *J. Neurosci.* **32**, 4688–4701 (2012).

Debrouse, L., Hurd, B., Kiselycznyk, C., Plitt, A., Todaro, A., Mishina, M., Grant, S., Camp, M., Gunduz Cinar, O., & *Holmes, A. Probing the modulation of acute ethanol intoxication by pharmacological manipulation of the NMDAR glycine coagonist site. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, in press.

山森哲雄

Takahata, T., Hashikawa, T., Tochitani, S., & *Yamamori, T. Differential expression patterns of OCC1-related, extracellular matrix proteins in the lateral geniculate nucleus of macaque monkeys. *J. Chem. Neuroanat.* **40**, 112–122 (2010).

Puig, M.V., Watakabe, A., Ushimaru, M., Yamamori, T., & *Kawaguchi, Y. Serotonin modulates fast-spiking interneuron and synchronous activity in the rat prefrontal cortex through 5-HT1A and 5-HT2A receptors. *J. Neurosci.* **30**, 2211–2222 (2010).

Sasaki, T., Komatsu, Y., Watakabe, A., Sawada, K., & *Yamamori, T. Prefrontal-enriched SLIT1 expression in Old World monkey cortex established during the postnatal development. *Cereb. Cortex* **20**, 2496–2510 (2010).

*Takahata, T., Shukla, R., Yamamori, T., & Kaas, J.H. Differential Expression Patterns of Striate Cortex-Enriched Genes among Old World, New World, and Prosimian Primates. *Cereb. Cortex*, PMID: 22065864 (2011)

Hirokawa, J., Sadakane, O., Sakata, S., Bosch, M., Sakurai, Y., & *Yamamori, T. Multisensory Information Facilitates Reaction Speed by Enlarging Activity Difference between Superior Colliculus Hemispheres in Rats. *PLoS ONE*, PMID: 21966481 (2011)

Rossini, L., Moroni, R.F., Tassi, L., Watakabe, A., Yamamori, T., Spreafico, R., & *Garbelli, R. Altered layer-specific gene expression in cortical samples from patients with temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* **52**, 1928–1937 (2011)

*Kitsukawa, T., Nagata, M., Yanagihara, D., Tomioka, R., Utsumi, H., Kubota, Y., Yagi, T., Graybiel, A.M., & Yamamori, T. A novel instrumented multipeg running wheel system, Step-Wheel, for monitoring and controlling complex sequential stepping in mice. *J. Neurophysiol.* **106**, 479–487 (2011)

*Watakabe, A., Hirokawa, J., Ichinohe, N., Ohsawa, S., Kaneko, T., Rockland, K., & Yamamori, T. Area-specific substratification of deep layer neurons in the rat cortex. *J. Comp. Neurol.*, in press.

Kinoshita, M., Matsui, R., Kato, S., Hasegawa, T., Kasahara, H., Isa, K., Watakabe, A., Yamamori, T., Nishimura, Y., Alstermark, B., Watanabe, D., Kobayashi, K., & *Isa, T. Genetic dissection of the circuit for hand dexterity in primates. *Nature*, in press.

森郁恵

Adachi, T., Kunitomo, H., Tomioka, M., Ohno, H., Okochi, Y., Mori, I., & *Iino Y. Reversal of salt preference is directed by the insulin/PI3K and Gq/PKC signaling in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* **186**, 1309–1319 (2010).

Liu J., Ward A., Gao J., Dong Y., Nishio N., Inada H., Kang L., Yu Y., Ma D., Xu T., Mori, I., Xie Z., & *Xu XZ. *C. elegans* phototransduction requires a G protein-dependent cGMP pathway and a taste receptor homolog. *Nat. Neurosci.* **13**(6), 715–722 (2010).

Nishida, Y., Sugi, T., Nonomura, M., & *Mori, I. Identification of the AFD neuron as the site of action of the CREB protein in *Caenorhabditis elegans* thermotaxis. *EMBO reports* **12**, 855–862 (2011).

Sugi, T., Nishida, Y., & *Mori, I. Regulation of behavioral plasticity by systemic temperature signaling in *Caenorhabditis elegans*. *Nat. Neurosci.* **14**(8), 984–992 (2011).

Kuhara A., Ohnishi, N., Shimowada, T., & *Mori, I. Neural coding in a single sensory neuron controlling opposite seeking behaviours in *Caenorhabditis elegans*. *Nat. Commun.* **2**:355 doi:10.1038/ncomms1352 (2011).

Miyara, A., Ohta, A., Okochi, Y., Tsukada, Y., Kuhara, A., & *Mori, I. Novel and Conserved Protein Macoilin Is Required for Diverse Neuronal Functions in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Genet* **7**(5): e1001384, 1001384 (2011).

Ohnishi, N., Kuhara, A., Nakamura, F., Okochi, Y., & *Mori, I. Bidirectional regulation of thermotaxis by glutamate transmissions in *Caenorhabditis elegans*. *EMBO J.* **30**(7), 1376–1388 (2011).

Nishio, N., Mohri-Shiomi, A., Nishida, Y., Hiramatsu, N., Kodama-Namba, E., Kimura, D., K., Kuhara, A., & *Mori, I. A novel and conserved protein AHO-3 is required for thermotactic plasticity associated with

feeding states in *Caenorhabditis elegans*. *Genes Cells*. **17**(5), 365-386 (2012).

Aoki, R., Yagami, T., Sasakura, H., Ogura, K., Kajihara, Y., Ibi, M., Miyamae, T., Nakamura, F., Asakura, T., Kanai, Y., Misu, Y., Iino, Y., Ezcurra, M., Schafer, R., W., Mori, I., & *Goshima, Y. A Seven-Transmembrane Receptor That Mediates Avoidance Response to Dihydrocaffeic Acid, a Water-Soluble Repellent in *Caenorhabditis elegans*. *J. Neurosci.* **31** (46), 16603-16610 (2012).

Kimata, T., Tanizawa, Y., Can, Y., Ikeda, S., Kuhara, A., & *Mori, I. Synaptic Polarity Depends on Phosphatidylinositol Signaling Regulated by Myo-inositol Monophosphatase in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, in press.

公募班員

齋藤哲一郎

*Saito, T. Nepro: A novel Notch effector for the maintenance of neural progenitor cells in the neocortex. *Adv. Exp. Med. Biol.* **727**, 61-70 (2012).

長尾元史

Pei, Z., Wang, B., Chen, G., Nagao, M., Nakafuku, M., & *Campbell, K. Homeobox genes Gsx1 and Gsx2 differentially regulate telencephalic progenitor maturation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **108**, 1675-1680 (2011).

Torii, T., Miyamoto, Y., Nagao, M., Onami, N., Tsumura, H., Maeda, M., Nakamura, K., Tanoue, A., & *Yamauchi, J. Knockdown of Dock7 in vivo specifically affects myelination by Schwann cells and increases myelin thickness in sciatic nerves without affecting axon thickness. *Am. J. Mol. Biol.*, in press.

遠藤光晴

Endo, M., Doi, R., Nishita, M., & *Minami, Y. Ror-family receptor tyrosine kinases regulate maintenance of neural progenitor cells in the developing neocortex. *J. Cell Sci.* **125**, 2017-29 (2012).

Endo, M., Nishita, M., & *Minami, Y. Analysis of Wnt/Planar cell polarity pathway in cultured cells. *Methods Mol. Biol.* **839**, 201-214 (2012).

波平昌一

Fujimoto Y., Abematsu M., Falk ., Tsujimura K., Sanosaka T., Juliandi B., Semi K., Namihira M., Komiya S., Smith A., & *Nakashima K. Treatment of a mouse model of spinal cord injury by transplantation of human iPS cell-derived long-term self-renewing neuroepithelial-like stem cells. *Stem Cells*, in press.

Namihira M., & *Nakashima K. Fate Specification of Neural Stem Cells. Neurogenesis in the adult brain I (eds. Seki, T., Sawamoto, K., Parent, J.M., & Alvarez-Buylla, A. Springer), pp. 87-108 (2012).

岡田誠司

Fujiwara, T., Fukushi, JI., Yamamoto, S., Matsumoto, Y., Setsu, N., Oda, Y., Yamada, H., Okada, S., Watari, K., Ono, M., Kuwano, M., Kamura, S., Iida, K., Okada, Y., Koga, M., & *Iwamoto, Y. Macrophage Infiltration Predicts a Poor Prognosis for the Human Ewing Sarcoma. *Am. J. Pathol.* **179**, 1157-1170 (2011).

Renault-Mihara, F., Katoh, H., Ikegami, T., Iwanami, A., Mukaino, M., Tada, H., Yasuda, A., Nori, S., Shibata, S., Saito, K., Matsushita, M., Kaibuchi, K., Okada, S., Toyama, Y., Nakamura, M., & *Okano, H. Beneficial compaction of spinal cord lesion by migrating astrocytes through Glycogen Synthase Kinase-3 inhibition. *EMBO Mol Med.* **3**, 682-696 (2011).

Tanaka, K., Shiota, M., Okada, S., Harada, A., Odawara, J., Mun, S., Iwao, H., & *Ohkawa, Y. Generation of a rat monoclonal antibody specific for HSP72. *Hybridoma.* **30**, 397-400 (2011).

Odawara, J., Harada, A., Yoshimi, T., Maehara, K., Tachibana, T., Okada, S., Akashi, K., & *Ohkawa, Y. The classification of mRNA expression levels by the phosphorylation state of RNAP II CTD based on genome-wide approach. *BMC Genomics.* **12**, 516-530 (2011).

Matsumoto, Y., Harimaya, K., Doi, T., Kawaguchi, K., Okada, S., Fujiwara, M., & *Iwamoto, Y. Clinical characteristics and surgical outcome of the symptomatic ossification of ligamentum flavum at the thoracic level with combined lumbar spinal stenosis. *Arch. Orthop. Trauma Surg.* **132**, 465-470 (2012).

Kumamaru, H., Saiwai, H., Ohkawa, Y., Yamada, H., Iwamoto, Y., & *Okada S. Age-related differences in the cellular and molecular profiles of inflammatory responses after spinal cord injury. *J. Cell. Physiol.* **227**, 1335-1346 (2012).

Kubota, K., *Okada, S., Maeda, T., Matsumoto, Y., Sakamoto, A., Doi, T., Harimaya, K., Saiwai, H.,

Kumamaru, H., Oda, Y., & Iwamoto, Y. Extradural nodular fasciitis arising in the spinal canal. *Spine*. **37**, E133-137 (2012).

*Mori, E., Okada, S., Ueta, T., Yague, I., Maeda, T., Kawano, O., & Shiba, K. Spinous proves splitting open pedicle screw fusion reduces low back pain and discomfort compared to the conventional open technique over one year after lumbar surgery. *Eur. Spin J.* **21**, 745-753 (2012).

Hara-Miyauchi, C., Tsuji, O., Hanyu, A., Okada, S., Yasuda, A., Fukano, T., Akazawa, C., Nakamura, M., Imamura, T., Matsuzaki, Y., Okano, H.J., Miyawaki, A., & *Okano, H. Bioluminescent system for dynamic imaging of cell and animal behavior. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **419**, 188-193 (2012).

Matsumoto, Y., Fujiwara, T., Imamura, R., Okada, Y., Harimaya, K., Doi, T., Kawaguchi, K., Okada, S., Yamada, Y., Oda, Y., & *Iwamoto, Y. Hematoma of the ligamentum flavum in the thoracic spine: report of two cases and possible role of the transforming growth factor beta-vascular endothelial growth factor signaling axis in its pathogenesis. *J. Orthop. Sci.*, in press.

Kubota, K., Saiwai, H., Kumamaru, H., Maeda, T., Ohkawa, Y., Aratani, Y., Nagano, T., Urano, Y., Iwamoto, Y., & *Okada, S. Myeloperoxidase exacerbates secondary injury by generating highly reactive oxygen species and mediating neutrophils recruitment in experimental spinal cord injury. *Spine*, in press.

Kubota, K., Saiwai, H., Kumamaru, H., Kobayakawa, K., Maeda, T., Matsumoto, Y., Harimaya, K., Iwamoto, Y., & *Okada, S. Neurological recovery is impaired by concurrent, but not by asymptomatic pre-existing spinal cord compression after traumatic spinal cord injury. *Spine*, in press.

Harada, A., Okada, S., Konno, D., Odawara, J., Yoshimi, T., Yoshimura, S., Kumamaru, H., Saiwai, H., Tsubota, T., Kurumizaka, H., Akashi, K., Tachibana, T., Imbalzano, AN., & *Ohkawa, Y. Chd2 interacts with H3.3 to determine myogenic cell fate. *EMBO J.*, in press.

Kumamaru, H., Saiwai, H., Kobayakawa, K., Kubota, K., Rooijen, NV., Inoue, K., Iwamoto, Y., & *Okada, S. Liposomal clodronate selectively eliminates microglia from primary astrocyte cultures. *J. Neuroinflammation*, in press.

花嶋かりな

Kasukawa, T., Masumoto, K.H., Nikaido I., Nagano, M., Uno, K.D., Tsujino, K., Hanashima, C., *Shigeyoshi, Y., & *Ueda, H.R. Quantitative expression profile of distinct functional regions in the adult mouse brain. *PLoS ONE* **6** (8): e23228 (2011).

Gonda, Y., Andrews, W.D., Tabata, H., Namba, T., Parnavelas J.G., Nakajima K., Kohsaka S., *Hanashima, C., & Uchino, S. Robo1 regulates the migration and laminar distribution of upper-layer pyramidal neurons of the cerebral cortex. *Cereb. Cortex*, in press.

岡戸晴生

*Ohtaka-Maruyama, C., Hirai, S., Miwa, A., Takahashi, A., & *Okado, H. The 5'-flanking region of the RP58 coding sequence shows prominent promoter activity in multipolar cells in the subventricular zone during corticogenesis. *Neuroscience* **201**, 67-84 (2012).

Hirai, S., Miwa, A., Ohtaka-Maruyama, C., Kasai, M., Okabe, S., Hata, Y., & *Okado, H. RP58 controls neuron and astrocyte differentiation by downregulating the expression of Id1-4 genes in the developing cortex. *EMBO J.* **31**, 1190-1202 (2012).

西原秀典

Nagai, H., Terai, Y., Sugawara, T., Imai, H., Nishihara, H., Hori, M., & *Okada, N. Reverse evolution in RH1 for adaptation of cichlids to water depth in Lake Tanganyika. *Mol. Biol. Evol.* **28**, 1769-76 (2011).

Yoshida, K., Terai, Y., Mizoiri, S., Aibara, M., Nishihara, H., Watanabe, M., Kuroiwa, A., Hirai, H., Hirai, Y., Matsuda, Y., & *Okada, N. B chromosomes have a functional effect on female sex determination in Lake Victoria cichlid fishes. *PLoS Genet.* **7**, e1002203 (2011).

Tashiro, K., Teissier, A., Kobayashi, N., Nakanishi, A., Sasaki, T., Yan, K., Tarabykin, V., Vigier, L., Sumiyama, K., Hirakawa, M., Nishihara, H., *Pierani, A., & *Okada, N. A Mammalian Conserved Element Derived from SINE Displays Enhancer Properties Recapitulating Satb2 Expression in Early-Born Callosal Projection Neurons. *PLoS ONE* **6**, e28497 (2011).

Yuzawa, Y., Nishihara, H., Haraguchi, T., Masuda, S., Shimojima, M., Shimoyama, A., Yuasa, H., Okada, N., & *Ohta, H. Phylogeny of galactolipid synthase homologs together with their enzymatic analyses revealed a possible origin and divergence time for photosynthetic Membrane biogenesis. *DNA Res.* **19**, 91-102 (2011).

貝淵弘三

Naoki, H., Nakamuta, S., Kaibuchi, K. & *Ishii, S. Flexible search for single-axon morphology during neuronal spontaneous polarization. *PLoS One* **6**, e19034 (2011).
Nakamuta, S., Funahashi, Y., Namba, T., Arimura, N., Picciotto, M. R., Tokumitsu, H., Soderling, T. R., Sakakibara, A., Miyata, T., Kamiguchi, H. & *Kaibuchi, K. Local application of neurotrophins specifies axons through inositol 1,4,5-trisphosphate, calcium, and Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinases. *Sci. Signal* **4**, ra76 (2011).
Watanabe, K., Akimoto, Y., Yugi, K., Uda, S., Chung, J., Nakamuta, S., Kaibuchi, K., & *Kuroda, S. Latent process genes for cell differentiation are common decoders of neurite extension length. *J. Cell Sci.*, in press
Namba, T., Nakamuta, S., Funahashi, Y. & *Kaibuchi, K. The role of selective transport in neuronal polarization. *Dev. Neurobiol.* (2011).

田川義晃

*Hayashi, Y., Tagawa, Y., Yawata, S., Nakanishi, S., & Funabiki, K. Spatio-temporal control of neural activity in vivo using fluorescence microendoscopy. *Eur. J. Neurosci.*, in press

中島欽一

Nagao H., Ijiri K., Hirotsu M., Ishidou Y., Yamamoto T., Nagano S., Takizawa T., Nakashima K., Komiya S., & *Setoguchi T. Role of GLI2 in the growth of human osteosarcoma. *J. Pathol.* **224**, 169-179 (2011).
*Kuwabara T., Kagalwala M.N., Onuma Y., Ito Y., Warashina M., Terashima K., Sanosaka T., Nakashima K., Gage F.H., & Asashima M. Insulin biosynthesis in neuronal progenitors derived from adult hippocampus and the olfactory bulb. *EMBO Mol. Med.* **3**, 12,742-754(2012).
Juliandi B., Abematsu M., Sanosaka T., Tsujimura K., Smith A., & *Nakashima K. Induction of superficial cortical layer neurons from mouse embryonic stem cells by valproic acid. *Neurosci Res* **72**, 1, 23-31(2012).
Mutoh T., Sanosaka T., Ito K., & *Nakashima K. Oxygen levels epigenetically regulate fate switching of neural precursor cells via HIF1 α -Notch signal interaction in the developing brain. *Stem Cells* **30**, 561-569 (2012).
Fujimoto Y., Abematsu M., Falk A., Tsujimura K., Sanosaka T., Juliandi B., Semi K., Namihira M., Komiya S., Smith A., & *Nakashima K. Treatment of amouse model of spinal cord injury by transplantation of human iPS cell-derived long-term self-renewing neuroepithelial-like stem cells. *Stem Cells* **30**, 1163-1173 (2012).

新明洋平

Ahmed, G., Shinmyo, Y., Ohta, K., Islam, S.M., Hossain, M., Naser, I.B., Riyadh, A., Su, Y., Zhang, S., Tessier-Lavigne, M., & *Tanaka, H. Draxin Inhibits Axonal Outgrowth through the Netrin Receptor DCC. *J. Neurosci.* **31**, 14018-14023 (2011).

小野勝彦

Gotoh, H., Ono, K., Takebayashi, H., Harada, H., Nakamura, H., & *Ikenaka K. Lineage tracing of Nkx2.2-expressing cells by genetically-defined lineage tracing method in chick spinal cord. *Dev. Biol.* **349**: 504-511(2011).
Kim, WR., Chun, SK., Kim, TW., Kim, H., Ono, K., Takebayashi, H., Ikenaka, K., Oppenheim, RW., & *Sun W. Evidence for the spontaneous production but massive programmed cell death of new neurons in the subcallosal zone of the postnatal mouse brain. *Eur. J. Neurosci.* **33**(4), 599-611 (2011).
Inamura, N., Ono, K., Takebayashi, H., Zalc, B., & *Ikenaka, K. Olig2-lineage cells generate GABAergic neurons in the prethalamic nuclei, including the zona incerta, ventral lateral geniculate nucleus and reticular thalamic nucleus. *Dev. Neurosci.* **33**(2), 118-129 (2011).
Gotoh, H., Ueda, T., Uno, A., Ohuchi, H., Ikenaka, K., & *Ono, K. Expression of myelin genes in the developing chick retina *Gene Expression Pattern* 2011 **11**(8), 471-5 (2011).
Usui, N., Watanabe, K., Ono, K., Tomita, K., Tamamaki, N., Ikenaka, K., & *Takebayashi, H. Role of motoneuron-derived NT-3 in survival and axonal projection of sensory neurons during neural circuit formation. *Development* **139**, 1125-1132 (2012).

井上浩一

*Inoue, K., Furukawa, T., Kumada, T., Yamada, J., Wang, T., Inoue, R., & *Fukuda, A. Taurine inhibits K^{+} -Cl⁻ cotransporter KCC2 to regulate embryonic Cl⁻ homeostasis via with-no-lysine (WNK) protein kinase signaling pathway. *J. Biol. Chem.* **287**, 20839-20850 (2012).
Jiang, G., Inoue, K., Wu, X., Papasian, C. J., Wang, J.-Q., *Xiong, Z.-G., & *Chu, X.-P. Cysteine 149 in

the extracellular finger domain of ASIC1b subunit is critical for zinc-mediated inhibition. *Neuroscience* **193**, 89-99 (2011).

Coombes, E., Jiang, J., Chu, X.-P., Inoue, K., Seeds, J., Branigan, D., Simon, R. P., & *Xiong, Z.-G. Pathophysiological relevant levels of hydrogen peroxide induce glutamate-independent neurodegeneration that involves activation of TRPM7 channels. *Antioxid. Redox Signal.* **14**, 1815-1827 (2011).

日置寛之

Li, Z., Ge, S., Zhang, F., Zhang, T., Mizuno, N., Hioki, H., Kaneko, T., *Gao, G., & *Li, J. Distribution of Gephyrin-Immunoreactivity in the Trigeminal Motor Nucleus: An Immunohistochemical Study in Rats. *Anat. Rec.* **295**(4), 641-651 (2012).

Kameda, H., Hioki, H., Tanaka, YH., Tanaka, T., Sohn, J., Sonomura, T., Furuta, T., Fujiyama, F., & *Kaneko, T. Parvalbumin-producing cortical interneurons receive inhibitory inputs on proximal portions and cortical excitatory inputs on distal dendrites. *Eur. J. Neurosci.* **35**(6), 838-854 (2012).

Ohno, S., Kuramoto, E., Furuta, T., Hioki, H., Tanaka, Y., Fujiyama, F., Sonomura, T., Uemura, M., Sugiyama, K., & *Kaneko, T. A Morphological Analysis of Thalamocortical Axon Fibers of Rat Posterior Thalamic Nuclei: A Single Neuron Tracing Study with Viral Vectors. *Cereb. Cortex*, in press.

村上富士夫

Nishida, K., Nakayama, K., Yoshimura, S., & *Murakami, F. Role of Neph2 in Potine Nuclei Formation in the Developing Hindbrain. *Mol. Cell Neurosci.* **46**, 662-670 (2011).

Inamura, N., Kimura, T., Tada, S., Kurakashi, T., Yanagida, K., Yanagawa, Y., Ikenaka, K., & *Murakami, F. Intrinsic and Extrinsic Mechanisms Control the Termination of Cortical Interneuron Migration. *J. Neurosci.* **32**, 6032-6042 (2012).

服部剛志

Ishikawa, T., *Miyata, S., Koyama, Y., Yoshikawa, K., Hattori, T., Kumamoto, N., Shingaki, K., Katayama, T., & Tohyama, M. Transient expression of Xpn, an XLMR protein related to neurite extension, during brain development and participation in neurite outgrowth. *Neuroscience*, in press.

*Hattori, T., Miyata, S., Ito, A., Katayama, T., & Tohyama, M. Psychosis and adhesion molecules. *Mental Illnesses - Understanding, Prediction and Control* 137-156 (2011)

服部光治

Yasui, N., Kitago, Y., Beppu, A., Kohno, T., Morishita, S., Gomi, H., Nagae, M., Hattori, M., & *Takagi, J. Functional importance of covalent homodimer of reelin protein linked via its central region. *J. Biol. Chem.* **286**, 35247-35256 (2011).

Kidani, Y., Ohshima, K., Sakai, H., Kohno, T., Baba, A., & *Hattori, M. Differential localization of sphingomyelin synthase isoforms in neurons regulates sphingomyelin cluster formation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **417**, 1014-1017 (2012).

古谷裕

Mori, Y., Matsui, T., Furutani, Y., Yoshihara, Y., & *Fukuda, M. Small GTPase Rab17 Regulates Dendritic Morphogenesis and Postsynaptic Development of Hippocampal Neurons. *J. Biol. Chem.* **287**, 8963-8973 (2012).

(2) ホームページとニュースレターについて

領域ホームページ (<http://www.md.tsukuba.ac.jp/neocortex/>) において、領域の概要、班員の研究内容を紹介し、研究活動成果、発表論文を逐次公表している。平成 22 年 9 月 1 日の開設以来の訪問数は 11,893 回、ページビュー数は 52,890 回であった (平成 24 年 6 月 19 日現在)。班員への情報提供にも活用している。

年に 2 回、領域の研究内容をまとめたニュースレターを発行し、神経科学研究者 (約 450 名) に配布している。ニュースレターでは、研究活動を報告するのみならず、班員の研究内容を一般の人にも分かりやすく解説した「研究者 INTERVIEW」のコーナーを作り、1 号に 1 人ずつ紹介記事を掲載している。さらに、ニュースレターを PDF 化したファイルを領域ホームページに掲載し、一般の方も自由にダウンロードして読むことを可能にしている。

(3) 公開発表について

本領域の主催で第1回国際シンポジウム“Neocortical Organization”を開催した（平成24年3月10日～13日、岡崎）。外国からの招待講演者8名、国内からの招待講演者21名、ポスター発表数48件、参加者137名で、大脳新皮質の発生と機能に関する活発な討論が行われた。



それ以外の主な国内外でのシンポジウム・セミナーの開催状況は以下の通りである。

後藤由季子：シグナル伝達研究の新しい展開、第84回日本生化学会大会、京都、2011.9.23 参加人数200人

後藤由季子：組織幹細胞と疾患、第16回分生研シンポジウム、東京、2011.10.12 参加人数100人

後藤由季子：神経幹細胞の分子生物学、日本分子生物学会、横浜、2011.12.13 参加人数500人
第84回日本生化学会大会、シンポジウム Cancer: From molecular mechanisms to therapeutic innovations. 京都国際会議場、2011.9.24

大隅典子：日本分子生物学会第10回春季シンポジウム（世話人）、松島、2010.6.7-8

大隅典子：Neurogenesis 2011 in Kobe（オーガナイザー）、神戸、2011.6.2-4

大隅典子：第34回日本神経科学大会（大会長）、横浜、2011.9.14-17

梶正幸：軸索・樹状突起形成におけるガイド分子の勾配、第34回日本神経科学学会大会シンポジウム、横浜、2011.9.15

山森哲雄：From Brain to Mind: Frontiers in Neuroscience, International Institute for Advanced Studies, Kizugawa City, Kyoto, 2011.12.6-9

山森哲雄：Marmoset/Macaque: Frontiers in Primate Neuroscience Research, Tokyo, 2012.2.22-24

国内外の会議等での招待講演数は、計画班員95件、公募班員35件であった。代表的なものは以下の通りである。

Kageyama, R.: The role of Notch signaling in embryonic and adult neural stem cells. ENP Neural Stem Cell Meeting, Abbaye des Vaux de Cernay, France, 2010.6.17-6.19

Kageyama, R., Imayoshi, I., and Sakamoto, M.: Functional significance of neurogenesis in the olfactory bulb. Keystone Symposia – Adult Neurogenesis, Taos, USA, 2011.1.9-1.14

Kageyama, R.: Essential roles of Notch signaling in embryonic and adult neural stem cells. 23rd Biennial Meeting of the International Society for Neurochemistry, Athens, Greece, 2011.8.28-9.1

Gotoh, Y.: Chromatin-level regulations during neocortical development, Cold Spring Harbor Conferences Asia, Local Transport-Francis Crick Neuroscience Symposium, Suzhou Dushu Lake Conference Center, Shanghai, China, 2010.4.12-17

Gotoh, Y.: Embryonic and adult neural stem cells in mouse telencephalon, 3rd International Congress on Stem Cells and Tissue Formation, Dresden, Germany, 2010.7.11-14

Gotoh, Y.: Neural stem cell maintenance in the adult brain, Joint CSH Asia/ISSCR Conference on Cellular Programs & Reprogramming, Suzhou Dushu Lake Conference Center, Suzhou, China, 2011.10.24-28

Noda, M.: The Roles of RECK in Cancer Progression and Mammalian Development. 2010 Fall International Convention of The Pharmaceutical Society of Korea. Cheongju, Korea, 2010.10.21-22

Osumi, N.: Evaluation of Pax6 mutant rat as a model for autism. Cell Symposia: Autism Spectrum

Disorders: From Mechanisms to Therapies. USA, 2011.11.11

Osumi, N.: Decrease of neurogenesis as a risk for the onset of mental diseases. 19th biennial meeting of the International Society for Developmental Neuroscience. Mumbai, India. 2012.1.14

Mishina, M.: Molecular insights into synapse formation from GluR δ 2-neurexin and IL1RAPL1-RPTP systems. ISN-ESN-2011 Statellite Meeting: The Synapse from Physiology to Pathology. Stresa, Italy, 2011.9.4-9.7

(4) 「国民との科学・技術対話」について

班員が研究活動の内容や成果を社会・国民に対して分かりやすく説明した活動は、合計 22 件であった。代表的なものは以下の通りである。

後藤由季子：脳を創る細胞の振舞い、GCOE 公開講座、東京、2012.1.21

瀬名秀明、大隅典子、荒俣宏：100 年後の夢を語る、未来をつくる、日立芸術フォーラム 2010、東京、2010.7.23

大隅典子：脳が生まれ、育っていく仕組み、東北大学脳科学センター公開講演会 “脳を科学する一脳の分子から精神現象の理解まで”、仙台、2010.11.27

大隅典子、本江正茂：再生をめぐる生命科学と、デザインの立場から一大震災を越えて、文部科学省 情報ひろば『サイエンスカフェ』、東京、2011.5.27

8. 研究組織と各研究項目の連携状況

大脳新皮質構築の最終的産物に形成機構を知る為には、神経幹細胞の多様な神経細胞を生み出す機構から出発することが重要である。神経細胞の多様性は、遺伝的にプログラムされた細胞系譜と外界からの環境入力の 2 つによって決まると考えられているが、本提案では、研究の焦点を発生時間軸に沿った 3 段階 (A01 項目、A02 項目、A03 項目) に分け、それぞれの研究の共同研究により、広い分野の研究者が参加したより包括的な視点から大脳新皮質の機構を解明する研究領域を目指している。各研究項目の計画班員・公募班員の主な連携状況は (他の項目間との連携も含む)、以下の通り活発に行われており、具体的成果があがってきている。

A01 研究項目

計画班員

影山龍一郎 マウス供与：A01 後藤由季子、Nestin-CreERT2 mice、pHes1-d2EGFP mice、A01 松崎文雄 (連携研究者)、Nestin-CreERT2 mice、pHes1-d2EGFP mice、A01 島崎琢也 所属の岡野栄之研、Nestin-CreERT2 mice、A01 岡戸晴生、Nestin-CreERT2 mice 手続き中、A02 野田亮、Nestin-CreERT2 mice、A02 大隅典子、Nestin-CreERT2 mice、A02 中島欽一、Nestin-CreERT2 mice、A02 新明洋平 所属の田中英明研、Nestin-CreERT2 mice、A03 村上富士夫、Nestin-CreERT2 mice

後藤由季子 共同研究と材料と情報の提供を受ける：A01 影山龍一郎、ノックアウトマウス、レポーターマウス、A01 中島欽一、大脳新皮質の幹細胞における epigenetic 情報の時期変化に関し共同研究を開始した。A03 山森哲雄、in situ hybridization の方法、川口泰雄、retrograde labeling の方法、A03 田川義晃、大脳新皮質ニューロンの活性化制御に関する情報提供、A01 松崎文雄 (連携研究者)、大脳新皮質スライス培養について情報提供

公募班員

遠藤光晴 供与を受ける：A01 川口綾乃 から単一細胞 RT-PCR 法の教授

岡田誠司 供与を受ける：A01 島崎琢也 から神経幹細胞の選択的採取培養法の教授

花嶋かりな 供与を受ける A03 服部光治 からノックアウトマウス

岡戸晴生 供与を受ける A01 影山龍一郎 からプラスミド

A02 研究項目

計画班員

梶正幸 提供、共同研究：A02 田川義晃、実験方法 (電気穿孔法) 教授、A03 山森哲雄、霊長類脳における遺伝子発現解析の共同研究を行っている。供与を受ける：A01 影山龍一郎、ノックアウトマウス、BrdU 染色法、A02 大隅典子、マウス全胚培養法、A01 斎藤哲一郎、電気穿孔法、A02 中島欽一、実験方法 (BrdU 染色) を教授された、A02 小野勝彦、抗体に関する情報

大隅典子 供与を受ける、討議、A01 影山龍一郎、Nestin-CreERT2 マウスの供与、A01 松崎 (連携研究員) Cyclin D2 の機能解析の研究遂行に際しての議論

公募班員

眞田佳門 供与を受ける：A02 貝淵弘三、BDNF の機能阻害抗体と至適濃度の教授

貝淵弘三 供与を受ける A01 影山龍一郎からプラスミド

田川義晃 供与：A01 後藤由季子、プラスミド、研究討議：A01 眞田佳門と研究結果と今後の方針に関して

中島欽一 供与：A01 後藤由季子、神経幹細胞の DNA メチル化情報の提供、A02 梶正幸、成体海馬における増殖細胞の免疫染色法の指導

古泉博之 供与を受け：A03 服部光治から初代神経細胞培養法、遺伝子導入法、形態解析の教授

小野勝彦 供与を受ける：A02 日置寛之、免疫染色のシグナル増強法についての情報の提供を受けた。

A03 研究項目

計画班員

山森哲雄 供与と共同研究；A01 後藤由季子 プラスミド、A02 梶正幸 霊長類における *sulfl,2* の発現解析の共同研究、A03 森郁恵 線虫走温性と霊長類一次視覚野における活動依存的遺伝子発現についての相違についての情報交換、供与を受ける：A03 日置寛之から順行性・逆行性標識法の情報

公募班員

日置寛之 供与：A02 須藤文和（大隅典子）、抗体を譲渡、A02 小野勝彦、免疫染色のシグナル増強法の情報、A03 山森哲雄、プラスミドを譲渡した A03 山森哲雄、順行性・逆行性標識法についての情報

服部光治 供与：A01 花嶋かりな、リーリン欠損マウス脳、供与を受ける：A01 花嶋かりな FoxG1 ノックアウトマウス、A02 小野勝彦から発生期のトリおよびカメの脳。

各研究項目の研究課題および、計画研究・公募研究研究者（氏名・所属・職）

（A01 研究項目）幹細胞からの多様な神経細胞産生

計画研究 01 「幹細胞多様性形成機構」

研究代表者：影山龍一郎（京都大学・ウイルス研究所・教授） 連携研究者：松崎文雄（理化学研究所・発生・再生科学総合研究センター・グループディレクター）

計画研究 02 「胎生期大脳新皮質神経幹細胞による多様な細胞の産生機構の解析」

研究代表者：後藤由季子（東京大学・分子細胞生物学研究所・教授）

計画研究 03 「幹細胞から神経・グリアへの分化機構解明」

研究代表者：島崎琢也（慶應義塾大学・医学部・講師）

公募研究（代表者氏名・所属・職）

斎藤哲一郎（千葉大学・医学系研・教授）「大脳新皮質の幹細胞の初期プログラム」

長尾元史（東京大学・分子細胞生物学研究所・助教）「アストロサイトの分化制御と多様性を生み出す分子メカニズム」

川口綾乃（名古屋大学・医学系研・准教授）「発生時期による神経幹細胞の分裂パターンの変化を制御する機構の解明」

遠藤光晴（神戸大学・医学系研・助教）「神経幹細胞の非対称分裂を介した自己複製における極性化制御因子の役割の解明」

波平昌一（奈良先端科技大・バイオ研・助教）「発生段階依存的な神経系細胞産生における DNMT 1 の機能解析」

岡田誠司（九州大学・医学系研・准教授）「ジーンクラスター解析による神経幹細胞分化機構の解明」

廣瀬智威（横浜市立大学・医学部・助教）「神経幹前駆細胞の運命決定に対する動的な調節機構の解析」

花嶋かりな（独立行政法人理化学研究所・研究員）「大脳皮質神経細胞産生プログラムの移行制御機構の解明」

岡戸晴生（財団法人東京都医学研究機構・研究員）「大脳皮質の飛躍的なニューロン産生増加の基盤メカニズム」

(A02 研究項目) 細胞多様性と神経投射

計画研究 04 「細胞表面分子の分解制御と神経発生」

研究代表者：野田亮（京都大学・大学院医学研究科・教授）

計画研究 05 「神経軸索投射による多様性形成機構の解析」

研究代表者：榊正幸（筑波大学・大学院人間総合科学研究科・教授） 研究分担者：塩見健輔（筑波大学・大学院人間総合科学研究科・講師） 研究分担者：榊和子（筑波大学・大学院人間総合科学研究科・講師）

計画研究 06 「神経細胞分化制御と層特異的投射の分子機構」 研究代表者

大隅典子（東北大学・大学院医学系研究科・教授） 研究分担者：須藤文和（国立精神神経医療センター、室長）

公募研究（代表者氏名・所属・職）

眞田佳門（東京大学・理学系・准教授）「大脳新皮質における神経細胞の極性を司る分子基盤の解析」

西原秀典（東京工業大学・生命理研・助教）「大脳新皮質形成に関わる発現制御機構」

貝淵弘三（名古屋大学・医学系研・教授）「生体内での軸索形成機構の解明」

田川義晃（京都大学・理学系・助教）「皮質 2 / 3 層興奮性細胞の特徴的な形態・機能獲得における神経活動の役割」

中島欽一（奈良先端科技大・バイオ研・教授）「抗てんかん薬バルプロ酸胎生期暴露による脳構築及び行動異常解析」

新明洋平（熊本大学・生命科学研・助教）「多様な軸索投射パターンの形成機構の解明」

古泉博之（大阪バイオサイエンス研究所・研究員）「神経細胞の形態を制御する分子機構」

小野勝彦（京都府立医大・教授）「大脳皮質-視床網様核-視床のクロストーク形成における転写調節」

(A03 研究項目) 神経細胞多様性の決定（層・領野・神経コード）

計画研究 07 「大脳新皮質の層構造と機能」

研究代表者：三品昌美（東京大学・大学院医学系研究科・教授）

計画研究 08 「領野・層発現分子の機能的意義の解明」

研究代表者：山森哲雄（基礎生物学研究所・脳生物学研究部門・教授） 研究分担者：川口泰雄（生理学研究所・大脳皮質機能系・教授） 木津川尚史（大阪大学生命科学研究科、准教授）、窪田芳之（生理学研究所・大脳皮質機能系・准教授）、佐々木哲也（国立精神医療研究センター、研究員）、連携研究者：坂野仁（東京大学・大学院理学系研究科・教授）

計画研究 09 「行動を制御する神経コードの分子レベルでの解読」

研究代表者：森郁恵（名古屋大学・大学院理学研究科・教授）

公募研究（代表者氏名・所属・職）

井上浩一（浜松医科大学・医学部・准教授）「カハール・レチウス細胞等の GABA の積極的興奮性とその生理的意義の解明」

日置寛之（京都大学・医学系研・助教）「皮質抑制性神経細胞が備える、特異的シナプス結合則の解明」

村上富士夫（大阪大学・生命機能研究科・教授）「大脳皮質抑制性介在ニューロンの多様性を生み出す新たなメカニズム」

服部剛志（大阪大学・医学系研・特任助教）「大脳皮質構築における DBZ の機能解析」

服部光治（名古屋市立大学・薬学研・教授）「大脳新皮質層構造の形成と維持におけるリーリン機能の解明」

古谷裕（独立行政法人理化学研究所・研究員）「終脳特異的細胞接着分子テレンセファリンへ結合する分子群による神経可塑性の制御機構」

9. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）

購入した設備の使用状況は、以下の通りである。

計画班員

- 購入した共焦点レーザー顕微鏡はほぼ毎日稼働しており、重要な免疫細胞・組織学的データが多数得られている。
- 購入した遠心機は分子生物学実験ならびに生化学実験において必需品であり、現在毎日使用している。
- 研究試料が増えたため、それらを保管する超低温槽を購入した。脳の3次元画像を構築するため、画像解析ソフトウェア一式（IMARIS 基本ソフトウェア、自動位置合わせソフトウェア、解析ワークステーション）を購入した。
- 設備品は、主に大脳新皮質におけるスライスを用いたパッチクランプと観察に必要な顕微鏡解析システムの構築に用いた。

公募班員

- 平成 23 年度科学研究費により *in vivo* エレクトロポレーターと画像解析基本ソフトウェアを購入し、大脳新皮質の神経幹細胞に遺伝子を導入し機能の解析を高効率で進めるとともに、神経幹細胞の形態などを新しい視点で解析することが可能になり、研究を大いに推進できている。
- 購入した実体顕微鏡は、マウス胎児脳から目的とする微細な組織片をピンセットとマイクロメスで切り出しするためなどに使用している。
- これまで細胞レベルでの解析を中心に行なってきたが、本研究費により手動回転式マイクロトームを購入したことで、組織レベルでの解析を効率的に行うことができるようになった。
- 顕微鏡観察の質を向上させるため、新型の蛍光フィルターキューブと高性能の対物レンズを購入し、これまで困難だった高感度・高解像度のデータ取得が可能になった。
- 研究費で購入した遺伝子導入装置により初代培養細胞への目的遺伝子の導入を効率良く行うことが可能になった。
- 本研究計画を実施するには、正立顕微鏡を用いて、脳スライス上で培養した神経細胞の経時観察が必要である。そのため、研究費を既存の顕微鏡の改変や付属品の付加などに積極的に利用し、目的の研究が達成できるようにつとめている。
- 蛍光顕微鏡を購入。初代神経細胞の形態を観察、撮影、解析する上で常時使用している。またエレクトロポレーションの機器を購入。初代神経細胞への遺伝子導入、子宮胎児脳への遺伝子導入にはかかせないもので、大変重用している。
- 平成 23 年度の予算で、蛍光実体顕微鏡、P2 安全キャビネットおよび遺伝子導入用のパルス発生装置を購入した。蛍光実体顕微鏡は、電気穿孔法により遺伝子を導入したサンプルの観察に必須の機器であり、遺伝子の導入の確認などに使用している。P2 安全キャビネットは、P2 レベルの遺伝子組み換え実験には必須の機器であり、レトロウイルスを用いた実験に使用している。パルス発生装置は、ニワトリ胚、マウス胎仔および新生児の脳に遺伝子を導入する電気穿孔法に用いて良好な結果を得ている。いずれの機器も、本研究課題の遂行に必須のものであり、これを購入できたため研究は予想以上に進展している。
- 電気生理学的実験を効率よく進めるために、溶液切替器や循環溶液制御装置を購入し、実験の効率化を推進した。

消耗品等の研究費の効率的使用の代表的例は以下の通りである。経費削減を含めた効率的使用を全班員が心がけている。

- 多くの経費は遺伝子改変マウスの作製・繁殖・維持等に用いている。開発した遺伝子改変マウスは多くの班員に供与している。
- 研究費は、消耗品費のかかる動物実験、培養細胞実験、分子生物学実験、生化学実験を行っており、研究費は最大有効活用させていただいている。
- また人件費でパートタイム技術補佐員を雇用したことは、育児との両立で限られる時間の中で研究を推進する際に、大きな助けとなっている。
- 次世代シーケンサーを用いたハイスループット解析のための費用に充てられているが、業者等の外部委託では解析費用が膨大となるため、独自に解析ネットワークや大学研究室との共同研究を行ない、少しでも効率の良い対費用効果を挙げるべく取り組んでいる。

10. 今後の研究領域の推進方策

計画研究について

計画班員は、国内外のシンポジウムにオーガナイザーや招待講演者として、積極的に参加しており、visibility も高い。既に、Cell (Impact factor36.1)や Nature Neuroscience (同 14.1) 等に論文が公表されている計画班員もいる。また、平成 24 年 3 月に開催した国際シンポジウムでも、領域アドバイザー(評価委員)や外国人招待講演者から高い評価を得ている。このように計画研究は全体として順調に進展している。しかし、現状に満足することなくより高い国際的フロントをめざして努力すべきであると考えている。優秀な若手の公募班員を加えた班会議や国際シンポジウムは、計画班員にとっても、この点からも大変良い刺激になっており、共同研究等も開始されている。今後、これらが具体的な共同研究の成果として結実すれば、本領域結成の目的である大脳新皮質構築の分野で国際的なフロント研究グループを形成することは、十分可能であろう。

公募研究について

平成 23~24 年度の 2 年間の公募研究を 23 件採択し、このうち 14 名は若手の准教授・助教・研究員である。これらの公募研究は新規性・独創性において大変優れたものであるが、現状では、まだ、公表されていないものも多く、今後成果としてどのように、論文として結実させることが課題である。領域としては、国際的フロント研究者とともに、若手研究者が自ら発表し、参加する場の提供が若手研究者の成長に大変重要であると考えている。平成 23 年 8 月夏の班会議、平成 24 年 3 月の国際シンポジウムはこのような場として大きな役割を果たし、新学術領域以外の他の研究種目ではできない重要な取り組みであると実感したが、今後もこのような取り組みを行う努力を続けていきたい。今年度、平成 25~26 年の公募班員を公募し採択することになるが、新たに採択された公募研究と計画研究の相乗的効果によって、領域の目標である大脳新皮質構築の分野で国際的なフロント研究グループを形成することを達成し、それに相応しい成果をあげることを目指す。

班員相互の共同研究の促進について

新学術領域研究の一つの重要なメリットは、通常の論読了や学会参加等では難しい班員相互の研究理解の深化と交流による自発的共同研究の展開である。「8. 研究組織と各研究項目の連携状況」で詳述したが、実際、領域内の項目内、項目外でも共同研究が進んでいる。こうした、共同研究は基本的には、班員相互の情報交換と討議により自発的に進むものであると考えているが、一定の段階では、これらの共同研究を踏まえて方向性をだすことが必要かもしれない。今年(平成 24 年)6 月に開催した技術支援講演会は、昨年夏の班会議で評価委員の助言に基づいて、アンケート調査を実施し、その中で、光イメージングと光操作技術の現状と可能な実験系の詳細を知りたいという最も希望の多かったテーマについて実施したものである。班員と班員の研究室に所属する若手研究者を対象に開催したが、通常の講演会やワークショップ等では得難い細部に焦点を当てた技術的講演により、実際に研究のイメージが広がり、講演後、講師の先生方へ具体的の問い合わせが相ついただと聞いている。そういう意味では、大きな成果があったと考えているが、今後、より具体的に光イメージングや光操作の実験系を領域内で浸透させていく方策を考えたい。具体的研究内容に即しては、線虫の走温性に関与する神経細胞と霊長類の一次視覚野での活動依存的遺伝子発現系の共通性の比較検討や、最近の当該分野のホットな話題である Kennedy と Dehay による霊長類大脳新皮質における outer subventricular zone (OSVZ) の存在、Kriegstein 等によるその幹細胞としての性質を持つことの発見(影山や大隅によって研究されている HES1 や PAX6 をマーカーとして用いている)、更に連携研究者である松崎等によるげっ歯類でも同様の細胞が存在し、細胞分裂様式との関連性を示す研究は、A01 項目、A02 項目の多くの研究者の関心を引き、このテーマ(霊長類とげっ歯類の大脳新皮質形成機構の異同)については、新たな共同研究が発展する可能性があるため、領域としてもそのような共同研究を育てたいと考えている。

班会議・国際シンポジウム等の開催と運営について

班会議や国際シンポジウムは、班員が相互の研究をより深く理解し、当該分野の研究を発展させて行く上で必要不可欠なものである。そういう意味では、個々の計画研究の進展を前提として、領域運営において基礎となる重要なものであると位置付けている。発足以来、A01~A03 の各項

目構成と計画班員を重視したプログラム編成を行ってきたが、これは、特に公募班員に、「3. 研究領域の目的及び概要」に記載した領域の概要について基本的理解を得ていただく必要があると判断したからである。しかし、領域発足2年を経過し、その趣旨もある程度浸透したので、今後は、公募班員は勿論、他領域の研究者を含めた共同研究や特定のテーマを中心したプログラム編成を柔軟に行い、上述したような、共同研究がより発展する報告で運営して行きたいと考えている。

11. 総括班評価者による評価の状況

I. 平成22年10月17日(日)第1回班会議(岡崎)を開いた。計画班員による研究計画の概要説明に対する討論を行うと共に、総括班評価者から領域運営に関するアドバイスも受けた。その要点は以下の通りである。

- 1) 申請時のヒアリングで、線虫に関する研究が含まれていることについて幾つか質問が出されたとの事だが、結局は、領域の趣旨に則した良い成果を出すことが何よりの説明となる。
 - 2) **optogenetics** に代表されるような新技術を高等動物に応用することをサポートする体制の構築が必要と思われる。公募による補強、領域外(例: 能瀬班や他の専門家)との連携、共同研究の支援を担当する者を置く、などの対策が考えられる。
- ⇒この意見を受け、三品班員を「共同研究コーディネーター」として総括班に加える事とした。
- 3) 5年後にどのようなコンセプトを出すのかを考えながら仕事を進める必要がある。
- ⇒本研究班を組織したことにより、哺乳類の脳を特徴付ける大脳新皮質の構築原理の共通性が見出され、さらにより高等な霊長類型の脳へと至る進化の過程の分子メカニズムの理解に繋がりがつつある。
- 4) 若手の活力を引き出し育てる工夫が必要である。他の領域では、若手の会、得意な技術のリスト作成などを行っている例もある。⇒多数の若手公募班員の採択。

II. 平成23年8月20日、総括班会議(神戸)においては、以下のようなアドバイスを得た。

- 1) 中間評価では、新領域として新しく何を出すことができたかが問われる。領域の特徴を明確にし、疾患との関連なども視野に入れる必要がある。
 - 2) 領域内の有機的連携をどう支援したかも重要な点である。
- ⇒これを受け、情報交換のためにメーリングリストを活用する事とした。
- 3) 成果の公表も重要である。
- ⇒ホームページとニュースレターの活用(担当: 榊)、英文の書籍の出版(担当: 影山)などを進める事とした。また、前回の議論を踏まえ、**optogenetics** 支援班(山森、影山、森)を作り、必要な活動や技術に関するアンケート調査を行う事とした。⇒平成23年度秋期に実施⇒アンケート結果に基づき平成24年6月7日技術講演会を実施、好評だった。

III. 平成24年3月10日~13日、岡崎コンファレンスセンターにおいて国際シンポジウムが開催された、海外からの招待講演者に加え、アドバイザーにも講演をお願いした。招待講演者からは、以下のような意見が出された。

- 1) ユニークでタイムリーな会であり、今後も是非続けて欲しい。
- 2) 研究の質の高さは素晴らしい。地震の直後に招待を受けて驚いたが、来て良かったと思う。
- 3) 大脳新皮質にフォーカスした研究者がこれだけ集まる事は珍しく、貴重な機会である。

以下は、その内の幾つかの外国人招待講演者からのものである。

- Thank you so much for organizing the symposium. It was extremely instructive and enjoyable. I will keep great memories of my stay at Okazaki, as other participants I am sure. Many thanks again.
- Thank you very much for the invitation and the great hospitality. I really enjoyed the symposium. I had a great time.
- I wish to thank you again for a fantastic trip and one of the best meetings I have ever attended. The whole experience was wonderful and I made many new friends.
- Thanks again for your hospitality and for that amazing meeting!
- I take the opportunity to thank you again for all your hospitality and the organization of this excellent meeting.

また、今回の中間評価に当たり、領域アドバイザーから、以下のような助言と評価をいただいている。

1) 本新学術新領域「神経細胞の多様性と大脳新皮質の構築」では、哺乳類で初めて出現し、ヒトで最も進化した脳構造である大脳新皮質をテーマとして、(A01) 幹細胞からの多様な神経細胞産生、(A02) 細胞多様性と神経投射、(A03) 神経多様性の決定(層・領野・神経コード)の3研究項目を設置して研究を行っている。班会議や関連シンポジウムには、ほぼ毎回出席させていただいているが、班会議には多くの若手研究者が参加し、活気のある発表と質疑応答がなされ、発生生物学研究と神経科学研究の融合による新たな学術領域の創成という、本領域申請時からの目標は十分に達することができるものとする。研究の進捗状況では、すでにいくつか注目すべき研究成果が出始めている。例えば、後藤由季子らは、早期型神経幹細胞から後期型神経幹細胞の変換にHMGa1という全ゲノムのクロマチンのリモデリングに参与する因子が重要なことを果たしていることを示し(Kishi et al., Nature Neurosci, in press)、神経幹細胞が発生過程で時期特異的な性質を変えて行くメカニズムの一端を明らかにしている。三品昌美らは、精神発達遅滞や自閉症の関連遺伝子であるIL-1-receptor accessory protein-like 1 (IL1RAPL1)が、protein tyrosine phosphatase (PTP) δ との相互作用を介してシナプス形成に重要な役割を果たすことを示し(Yoshida et al., J Neurosci, 2011)、精神発達遅滞や自閉症の発症におけるシナプス形成の異常が関与することを示した。また松崎文雄らは、OSVZ (outer subventricular zone)という進化の過程で新しい増殖層の形成機構を遺伝子改変マウスを用いて示すことに成功している(Shitamukai et al., J Neurosci, 2011)。ヒトを含む霊長類でどのように大脳新皮質が拡大したかという謎の一端を明らかにする研究である。このように新しい研究成果も次々と出て来ており、これらを統合して行く事により、新学術領域というに相応しい新しい学問大系を構築につなげていって欲しいものと期待する。(岡野栄之)

2) 本新学術領域研究「大脳新皮質構築」は、個々の研究においては順調に発展しており、すでに GluR δ 2 によるシナプス形成の研究や幹細胞からのニューロン産生研究をはじめとしていくつかの世界に注目される研究が発表され、成果が出つつある。今後は、項目 A01~A03 を超えた領域全体にわたる「大脳新皮質構築原理」の理解に向けて頑張ってもらいたい。(森憲作)

3) 本研究領域は、ヒトにおいて最も発達し、様々な脳高次機能を担う大脳新皮質の構築原理の解明を目指して、平成 22 年度に発足した。我が国の大脳新皮質発生・発達の研究レベルは高く、本研究領域の研究代表者は、それぞれ世界のトップランナーである。これまで2年間の研究で、それぞれ順調に成果が挙がっており、また班員間の連携や共同研究も活発に行われている。また、我が国では、30 台後半をピークに多くの優秀な若手研究者がこの分野で育ってきており、それぞれ独立の時期を迎えている。そのような時期に本領域研究が始まったのは極めてタイムリーであり、このような若手がこの研究領域に参加することで、この分野が益々発展することが期待できる。本年 3 月 10 日から 14 日に開催された国際シンポジウムは、Kriegstein 博士、Yuste 博士、Hensch 博士など、世界の代表的研究者が参加し、本領域研究の研究者に多くの刺激を与えるとともに、我が国の研究レベルの高さを国際的にアピールするよい機会となった。今後とも、この国際交流に力を入れ、名実ともに世界をリードする業績を挙げるとともに、グローバルな人材輩出を期待する。(狩野方伸)

4) 領域アドバイザー

平成 22 年度

中西重忠 大阪バイオサイエンス研究所所長
鍋島陽一 先端医療振興財団先端医療センター長
森憲作 東京大学医学系研究科教授
貝淵弘三 名古屋大学医学系研究科教授
岡野栄之 慶応大学医学部教授

平成 23 年度

鍋島陽一 先端医療振興財団先端医療センター長

森 憲作 東京大学医学系研究科教授
岡野栄之 慶応大学医学部教授
相沢慎一 理化学研究所発生・再生科学総合研究センター
狩野方伸 東京大学医学系研究科教授

海外からの招待講演者

François Guillemot MRC National Institute for Medical Research
Marta Nieto Centro Nacional de Biotechnologia
Arnold Kriegstein University of California, San Francisco
Song-Hai Shi Sloan-Kettering Institute
Franck Polleux The Scripps Research Institute
Rafael Yuste Howard Hughes Medical Institute, Columbia University
Christopher Gregg University of Utah
Takao Hensch Harvard University



平成 23 年度夏の班会議の様子