

平成 28 年 5 月 31 日現在

機関番号：82401

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2010～2014

課題番号：22123001

研究課題名（和文）神経細胞の多様性と大脳新皮質の構築

研究課題名（英文）Generation of Neural Diversity and Neocortex

研究代表者

山森 哲雄（Yamamori, Tetsuo）

国立研究開発法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・チームリーダー

研究者番号：80260206

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 31,900,000 円

研究成果の概要（和文）：大脳新皮質の層構造は、下層から順次形成された6層構造がシート状に折り畳まれて、頭蓋、硬膜の中に収容されている。大脳新皮質における神経細胞は複雑に結合しながら、領野と呼ばれる機能単位を形成する。この層と領野の形成と機能を知る事が大脳新皮質の原理的理解に必須であると考えられる。本領域は、平成22年に発足し、平成27年3月まで、9件の計画研究と48件（延べ）の公募研究を行い、神経細胞の多様性形成機構と構築機構の解明を目指して研究を行ってきた。本領域は、大脳新皮質に中心的焦点を当てた大型グループ研究として国際的にも独自のものであり、大脳新皮質形成の時系列制御機構を始点とする幾多の成果をあげた。

研究成果の概要（英文）：The neocortex is formed as the six layers that are sequentially generated in the order so that newly synthesized layer neurons get over the older layer cells (in-side-out fashion). The neocortical cells also are formed as so called "areas" that are divided into some of 50 different parts of the neocortex. Each area is defined as a functional unit which is originally distinguished by cytoarchitectonic differences. It is thought that understanding the formation of the layers and areas can contribute to understanding the basic principle underlying the function of the neocortex. We therefore organized a group grant that is specifically focused on the formation and the functional organization of the neocortex. This group started in 2010 for five years and achieved a significant contribution to the field not only in Japan but also internationally.

研究分野：分子脳科学

キーワード：大脳新皮質 領野 層 神経幹細胞 神経投射

1. 研究開始当初の背景

大脳新皮質は、哺乳類にのみ観察され、全ての哺乳類で6層を有する構造体である。大脳皮質は、哺乳類以外の脊椎動物では、他の脳部位(中脳、小脳、脳幹、線条体等々)の補助的な役割を果たすに過ぎないが、哺乳類では、下位中枢神経系からの情報を統合した上で、指令信号を出力する文字通り脳機能の中枢指令塔としての役割を果たし、ヒトにおいては、150億以上の神経細胞とその10倍以上のグリア細胞からなる複雑な神経ネットワークを形成する。

大脳新皮質の層構造は、発生に伴って、下層から順次形成され、新たにできた細胞が前にできた細胞を乗り越えて、新たな層を作る事によって形成され、シート状に折り畳まれて頭蓋の中に収容されている。大脳新皮質の神経結合は、複雑であるが、ランダムに繋がっている訳ではなく、領野と呼ばれる機能的単位に統合されている。この層と領野の形成と機能を知る事が大脳新皮質の原理的理解に必須であると考えられる。

本領域は、神経細胞の多様性形成機構の解明から大脳新皮質構築の基本的原理を明らかにすることをめざして、平成22年に発足し、平成27年3月まで、9件の計画研究と48件(延べ)の公募研究を行い、神経細胞の多様性形成と大脳新皮質形成の機構を分子細胞レベルから解明することを目指して研究を行った。

2. 研究の目的

大脳新皮質は、哺乳類に於いて始めて出現し、ヒトにおいて最も高度に発達した組織であるが、領野と呼ばれる機能的単位から構成されている。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。大脳皮質構築の最終産物である領野の形成機構を知る為には、神経幹細胞による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る。この事は、英国の諺では、「Nature or Nurture」と表現されるが、哺乳類の脳神経系では、神経細胞の系譜の決定過程自体が、外界からの入力によって、影響を受けるので、より精密な研究パラダイムの構築が必要であると考えた。そこで、本提案では、研究の焦点を発生の時間軸に沿った3段階に分け、各段階で見られる多様性形成機構を解明し、それを踏まえた共同研究により、広い分野の研究者が参加した大脳新皮質構築機構を解明できる研究領域を提案した。

3. 研究の方法

大脳新皮質は、神経管の形成から始まると行っても良いが、こうした観点から見ると、神経細胞の多様性が生じる第一の段階は、脳室帯細胞が分裂を繰り返し、多数の神経細胞を生じる段階で起こる。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ことを目指し

た。大脳新皮質形成の第二段階は、視床等、脳の各部位から大脳新皮質へ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。大脳皮質の神経細胞分化は、ある段階までは、視床からの投射とは、独立に進行するが、大脳皮質と他の脳領域が相互に結合した段階で神経細胞の多様性決定の方向が再調整される。大脳新皮質形成の第3の段階は、分裂を停止し、成熟しつつある神経細胞における環境入力に応じた神経コード(神経細胞の結合と活動による情報の表現)の変化である。その結果生ずる形態・機能の異なった多様な神経細胞は、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て、高度な情報処理を可能とする場が形成される。これらの三段階の多様性形成機構解明をめざして、次の3研究項目を設置した。

(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) 細胞多様性と神経回路

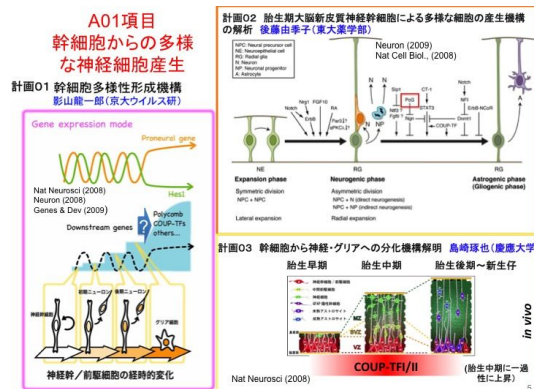
(A03 研究項目) 神経細胞多様性と神経コード

これらの研究項目を遂行するため、各項目3名の計画班員と平成23-24年度、平成25-26年度の2期に亘って、延べ48件の公募研究を採択して、研究を行った。

4. 研究成果

各研究項目による主な成果は以下の通りである。

A01 項目



神経細胞が経時的変化により多様な細胞を産生し、大脳新皮質の多様性形成に関する機構解明を目指して、以下の成果をあげた。

影山は、神経幹細胞の調節転写因子 Hes-1 の2時間周期の振動を観察し、これとプロニユール遺伝子の共役的振動により、幹細胞の時系列が決定される可能性を示唆し、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を示した。後藤は、クロマチン凝集状態に関わる転写因子 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事を示したのにつき、Scratch による神経細胞移動の開始制御や成熟個体の神経幹細胞が分裂速度の遅い体制幹細胞由来である事を示した。島崎は、グリア産生移行に重要な役割を担う Coup-TF1/II の下流で複数の miRNA-17/106 が P38 を制御することに

より神経・グリア遷移を制御していることを示し、後藤の発見と合わせて、神経細胞産生期とグリア産生期に於ける神経幹細胞の分子基盤の解明が進展した。

A02 項目

層特異的神経細胞の多様性形成機構と神経投射の関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関して、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、糖蛋白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。梶は、脱硫酸化酵素 Sul1/Sulf2 による軸索ガイド分子の局在制御が神経軸索投射を制御していることを明らかにした。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主要抑制因子 RECK の脳虚血後の組織障害と機能回復促進等に関与することを明らかにした。A03 項目

大脳新皮質が多様な階層性を持つ組織へと構築され、高度な情報処理が可能となる分子機構を明らかにする為、三品は、精神遅滞や自閉症の原因遺伝子 IL1RAPL1 を調べ、PTP とシナプス間の接着分子作用による、大脳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 CBI 1・Neurexin・GluR 2 によるシナプス形成機構解明と合わせ、小脳と大脳という脳の二大領域に於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見出した。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の解析を行い眼優位性カラムの確証を得た。また、連合野特異的発現遺伝子と視覚野特異的発現遺伝子のプロモーター領域のメチル化が前者では高く、後者では低いこと、更に、メチル化結合蛋白質 MBD4 が前者の発現を制御していることを明らかにした。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分裂停止後のこれらの神経細胞においても、シナプス伝達の制御によって、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、多様性の究極の様式の一つであると考えられる。線虫をモデルシステムとして、神経コード決定の分子機構を明らかにするため、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)の多様な神経伝達様式をイメージングと光操作法を駆使して明らかにした。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

A01 項目

1 成熟個体神経幹細胞の由来

Furutachi, S., Miya, H., Watanabe, T., Kawai, H., Yamasaki, N., Harada, Y., Imayoshi, I., Nelson, M., K.I. Nakayama, Hirabayashi, Y. & Gotoh, Y. Slowly dividing neural progenitors are an embryonic origin of adult neural stem cells. Nat. Neurosci. (2015 in press). (査読有)

2 bHLH 型転写因子による神経細胞の自己複製、多様性と細胞運命決定機構(総説)

Imayoshi, I. & Kageyama, R. bHLH factors in self-renewal, multipotency, and fate choice of neural progenitor cells. Neuron 82, 9-23 (2014). (査読有)

3 マイクロ RNA による神経細胞からグリア細胞分化への遷移調節

Naka-Kaneda, H., Nakamura, S., Igarashi, M., Aoi, H., Kanki, H., Tsuyama, J., Tsutsumi, S., Aburatani, H., Shimazaki, T., & Okano, H. The miR-17/106-p38 axis is a key regulator of the neurogenic-to-gliogenic transition in developing neural stem/progenitor cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 111, 1604-1609 (2014). (査読有)

4 転写因子の振動(オシレーション)による神経細胞の多様性と運命決定

Imayoshi, I., Isomura, A., Harima, Y., Kawaguchi, K., Kori, H., Miyachi, H., Fujiwara, T.K., Ishidate, F., & Kageyama, R. Oscillatory control of factors determining multipotency and fate in mouse neural progenitors. Science 342, 1203-1208 (2013). (査読有)

5 Scratch による神経細胞の移動の開始制御

Itoh, Y., Moriyama, Y., Hasegawa, T., Endo, T.A., Toyoda, T., & Gotoh, Y. Scratch regulates neuronal migration onset via an epithelial-mesenchymal transition-like mechanisms. Nat. Neurosci. 16, 416-425 (2013). (査読有)

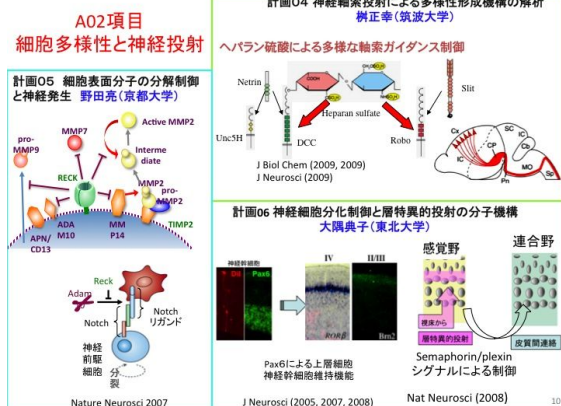
6 神経細胞の運命決定と移動の転写制御による共役

Itoh, Y., Tyssowski, K., & Gotoh, Y. Transcriptional coupling of neuronal fate commitment and the onset of migration. *Curr. Opin. Neurobiol.* 23, 957-964 (2013). (査読有)

7 HMGA 蛋白質による神経前駆体細胞の分化状態維持

Kishi, Y., Fujii, Y., Hirabayashi, Y., & Gotoh, Y. HMGA proteins regulate global chromatin state and the neurogenic potential in neocortical precursor cells. *Nat. Neurosci.* 15, 1127-1133 (2012). (査読有)

A02 項目
計画研究



1 E-cadherin のダウンレギュレーションと RECK のアップレギュレーションの共役

Yuki, K., Yoshida, Y., Inagaki, R., Hiai, H. & Noda, M. E-cadherin-downregulation and RECK-upregulation are coupled in the non-malignant epithelial cell line MCF10A but not in multiple carcinoma-derived cell lines. *Sci. Rep.* 4, 4568 (2014). (査読有)

2 CyclinD2 の局在と神経幹細胞分化制御

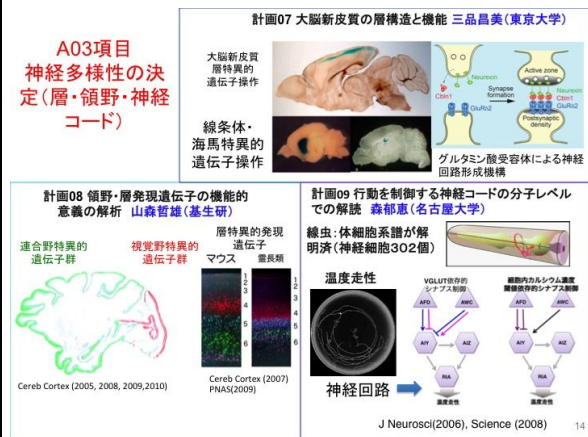
Tsunekawa, Y., Britto, J.M., Takahashi, M., Polleux, F., Tan, S-S., & Osumi, N. Cyclin D2 in the basal process of neural progenitors is linked to non-equivalent cell fates. *EMBO J.* 31, 1879-1892 (2012). (査読有)

PubMed

3 ヘパラン硫酸分解酵素と神経投射

Nagamine, S., Tamba, M., Ishimine, H., Araki, K., Shiomi, K., Okada, T., Ohto, T., Kunita, S., Takahashi, S., Wisnans, 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). (査読有)

A03 項目
計画班員



1 グルタミン酸受容体 (PTPδ-IL1RAPL1/IL-1RAcP) とシナプ形成

Yamagata, A., Yoshida, T., Sato, Y., Goto-Ito, S., Uemura, T., Maeda, A., Shiroshima, T., Iwasawa-Okamoto, S., Mori, H., Mishina, M. and Fukai, S. Mechanisms of splicing-dependent trans-synaptic adhesion by PTPδ-IL1RAPL1/IL-1RAcP for synaptic differentiation. *Nat. Commun.* 6, 6926 (2015). (査読有)

2 グルタミン酸受容体 GluN2B と GluN2D の機能

Yamasaki, M., Okada, R., Takasaki, C., Toki, S., Natsume, R., Sakimura, K., Mishina, M., Shirakawa, T. and Watanabe, M. Opposing role of NMDA receptor GluN2B and GluN2D in somatosensory development and

maturation. *J. Neurosci.* 34, 11534-11548 (2014). (査読有)

3 DNA メチル化とメチル化結合蛋白による連合野特異的遺伝子発現制御機構

Hata, K., Mizukami, H., Sadakane, O., Watakabe, A., Ohtsuka, M., Takaji, M., Kinoshita, M., Isa, T., Ozawa, K., & Yamamori T. DNA methylation and methyl-binding proteins control differential gene expression in distinct cortical areas of macaque monkey. *J. Neurosci.* 33, 9704-19714 (2013). (査読有)

4 原猿、新世界ザル、旧世界ザル一次視覚野における遺伝子発現

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* 22, 2313-2321 (2012). (査読有)

5 線虫温度走性における行動可塑性の制御

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

6 GluRδ2、neurexin、Cbln1 による小脳シナプス形成

Uemura, T., Lee, S., Yasumura, M., Takeuchi, T., Yoshida, T., Ra, M., Taguchi, R., Sakimura, K. & Mishina, M. Trans-synaptic interaction of GluRδ2 and neurexin through Cbln1 mediates synapse formation in the cerebellum. *Cell* 141, 1068-1079 (2010). (査読有)

〔雑誌論文〕(計 465 件) 領域全体

〔学会発表〕(計 1065 件) 領域全体

〔図書〕(計 51 件) 領域全体

「Cortical Development: Neural Diversity and Neocortical Organization」(Kageyama, R. and Yamamori, T Eds) Springer (Tokyo, Heidelberg,

New York, Dordrecht, London) 2013

〔産業財産権〕

出願状況(計 7 件) 領域全体

1. 発明の名称: 多能性幹細胞からの神経細胞の分化誘導方法

発明者氏名: 影山龍一郎、小林妙子

出願番号: PCT/JP2010/62014

特許出願日: 2010 年 7 月 15 日

国内外の別: 国外

2. 発明の名称: 幹細胞の増殖と分化の光遺伝学的制御方法

国内特許出願

出願日: 平成 25 年 9 月 18 日

出願番号: 特願 2013-193582

出願人: 国立大学法人京都大学

発明者: 影山龍一郎・磯村彰宏・今吉格

国内外の別: 国内

3. 発明の名称: 幹細胞の増殖と分化の光遺伝学的制御方法

発明者氏名: 影山龍一郎、磯村彰宏、今吉格

出願番号: PCT/JP2014/074458

特許出願日: 2014 年 9 月 17 日

国内外の別: 国外

4. 名称: Screening method for anticancer drugs

発明者: 野田亮、村井竜也、北山仁志、吉田陽子

権利者: 国立大学法人京都大学

番号: 13/812,715

出願年月日: 03/11/2013 (認可: 02/04/2015)

国内外の別: 米国

5. 名称: 精神神経系疾患モデル非ヒト動物及びその用途

発明者: 服部 剛志、遠山 正彌、松崎 伸介、片山 泰一、伊藤 彰、服部 剛志、遠山 正彌、松崎 伸介、片山 泰一、伊藤 彰

権利者:

番号: 特願 2011-163236

出願年月日: 2011 年 07 月 27 日

6. 名称: 抗体とその利用

発明者: 服部光治、河野孝夫、鯉江真利、久永有紗

権利者: 公立大学法人名古屋市立大学

権利者: 特願 2011-179161

出願年月日: 2011 年 8 月 18 日

国内外の別: 国内

7. 名称: ADAMTS-3 を用いたリーリン分解

発明者: 服部 光治、河野 孝夫、久永 有紗、鯉江 真利、鈴木 健太

権利者: 公立大学法人名古屋市立大学

権利者: 特願 2012-180354

出願年月日: 2012 年 8 月 16 日

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

領域代表者：山森 哲雄（国立研究開発法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・チームリーダー）研究者番号：80260206

(2) 研究分担者

研究分担者：影山 龍一郎（京都大学・ウイルス研究所・教授）研究者番号：80224369

研究分担者：後藤 由季子（東京大学・薬学研究科・教授）研究者番号：70252525

研究分担者：島崎 琢也（慶應義塾大学・医学部・准教授）研究者番号：00324749

研究分担者：野田 亮（京都大学・医学研究科・教授）研究者番号：30146708

研究分担者：榊 正幸（筑波大学・医学医療系・教授）研究者番号：20243032

研究分担者：大隅 典子（東北大学・医学研究科・教授）研究者番号：00220343

研究分担者：三品 昌美（立命館大学・総合科学技術研究機構・教授）研究者番号：80144351

研究分担者：森 郁恵（名古屋大学・理学研究科・教授）研究者番号：90219999

〔その他〕

以上の全データは、領域ホームページに記載（アドレスは以下）

<<http://www.md.tsukuba.ac.jp/neocortex/>>