

平成 22 年 5 月 31 日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2004 ～ 2009

課題番号：16070101

研究課題名（和文） 分子レベルからの脳機能構築機構の解明

研究課題名（英文） Molecular Basis of the Structure and Function of the Brain

研究代表者

三品 昌美 (MISHINA MASAYOSHI)

東京大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：80144351

研究成果の概要（和文）：本特定領域研究により、神経幹細胞から神経回路網形成にいたる脳発達の全体像を分子レベルから解明する研究が推進された。さらに、分子、神経細胞および高次ネットワークの3つのレベルから神経細胞機能発現の分子機構解明が進展した。また、神経細胞、神経回路、システムの階層を貫いて、分子レベルから脳高次機能に迫る統合研究が推進された。これらの研究成果は多くの学術論文として発表され、広く社会にも伝えられました。

研究成果の概要（英文）：Integrative molecular approaches to the structure and function of the brain revealed the molecular mechanisms of the brain development from the development of neural stem cells to the neural network formation. Furthermore, functions of neurons have been studied at the levels of molecular network, neural network and brain systems. Finally, we established integrative molecular brain sciences and investigated the molecular basis of higher brain functions. These achievements were reported in many academic journals and presses.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2004年度	3,500,000	0	3,500,000
2005年度	4,700,000	0	4,700,000
2006年度	5,000,000	0	5,000,000
2007年度	4,900,000	0	4,900,000
2008年度	4,900,000	0	4,900,000
2009年度	5,100,000	0	5,100,000
総計	28,100,000	0	28,100,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経化学・神経薬理学

キーワード：(1) 分子 (2) 神経幹細胞 (3) 神経回路網 (4) 脳発達 (5) 神経細胞機能 (6) 脳高次機能 (7) 統合研究 (8) 分子脳科学

1. 研究開始当初の背景

生命体の情報伝達器官である脳神経系は、ヒトにおいて最も高度に発達し、1000億の多様な神経細胞がそれぞれ数万にもものぼるシ

ナプスを介して複雑かつ整然としたネットワークを形成し、神経ネットワークの階層構造が脳システムを構成している。生命の原理を論理的に理解しようとする分子生物学は、

20 世紀後半における生命科学発展の大きな原動力となり、生命科学最後のフロンティアとされる脳科学の分野においても、遺伝子・分子レベルから記憶・学習をはじめとする脳高次機能に迫ることを可能にする地平にまで到達した。脳科学への分子生物学の適用は 1960 年代にはじまり、様々なモデル系が開発された。1980 年代には、沼らによるアセチルコリン受容体やナトリウムチャネルのクローニングに代表されるように神経情報の伝達を担う分子の実体解明が進み、その後、脳における記憶や学習の鍵分子であるグルタミン酸受容体のクローニングへと発展した。この分子神経生物学研究の開拓に我が国は大きく貢献している。1990 年代になって、マウスの遺伝子ノックアウト法が脳科学へ適用されるようになり、我が国においても、グルタミン酸受容体サブタイプ欠損マウスの解析により、グルタミン酸受容体が中枢シナプスの可塑性と記憶・学習あるいは脳の機能地図の形成に重要であることが明らかにされた。さらに、シナプス受容体とその機能、局在に関与する分子群、細胞骨格、情報伝達分子に関しても新しい機能分子の発見や動態解明等我が国で多くの優れた研究が行われている。一方、神経細胞の分化や細胞移動、軸索の伸長や分岐決定、標的識別とシナプス形成、脳における領域特異性の決定、さらには神経活動依存的な回路改変の機構等の脳・神経系の発生・発達メカニズムの解明にも多くの先端的研究が行われている。

遺伝子・分子レベルから脳神経系の構築と脳構造の形成さらには記憶・学習をはじめとする脳機能を解析する先駆的研究に代表される分子脳科学の各分野の発展から、分子脳科学は、分子レベルから脳高次機能に至る脳科学の諸分野を融合させ、脳の統合科学への新たな飛躍的發展を図るべき転換期を迎えている。このような認識の下、我が国において脳神経系の情報伝達を担う受容体やチャネルの解明をはじめ分子レベルからの先駆的脳研究が達成されてきた成果を基盤に、ゲノム計画による遺伝情報の全体像解明の成果、生体分子の可視化技術、部位時期特異的遺伝子操作法などに代表される新たな分子生物学・分子遺伝学の方法論を組み込み、3 つの研究項目を設定することにより分子脳科学の諸分野の力を結集し、飛躍的な発展を目指すとともに、分子レベルから脳高次機能に至る統合脳科学の開拓を図る必要がある。

2. 研究の目的

脳神経系の構築と脳構造の形成のメカニズムを明らかにし、さらには記憶・学習をはじめとする脳高次機能のメカニズムを遺伝子・分子レベルから解き明かそうとする分子脳科学は著しい発展を遂げてきた。分子脳科

学の進展は、ゲノム計画による遺伝情報の全体像解明の成果、生体分子の可視化技術、部位時期特異的遺伝子操作法などに代表される新たな分子生物学・分子遺伝学の方法論を組み込み、分子レベルから脳高次機能に至る脳科学の諸分野を融合させ、新たな飛躍を可能にする段階に達し、脳の統合科学への展開を目指すべき転換期を迎えている。我が国において脳神経系の情報伝達を担う受容体やチャネルの解明をはじめ分子レベルからの先駆的脳研究が達成されてきた成果を基盤に、本特定領域研究「分子レベルからの脳機能構築機構の解明」(略称「分子脳科学」)は、生命現象の根幹である遺伝子・分子に基盤をおき、神経細胞の誕生から脳高次機能に至る 3 つの研究項目を設定することにより、分子脳科学の諸分野の力を結集し、分子レベルから脳高次機能に至る統合脳科学を開拓することを目的とした。すなわち、研究項目 A 0 1「神経細胞の運命決定及び動態に関与する分子」(略称「運命決定」)を設け、神経細胞の運命決定(分化、選択的細胞死など)や細胞動態(移動、突起伸長、形態形成、特異的シナプス形成など)の分子機構を、細胞自律的な過程と細胞外環境(細胞外マトリックスや標的細胞)に依存する過程の両面から明らかにすることを目的とした。研究項目 A 0 2「神経細胞の機能発現に関与する分子」(略称「機能発現」)においては、神経細胞の特異的機能発現に関わる分子を探索するとともに、機能分子の神経細胞に於ける働きを明らかにすることにより、脳神経系が体の他の組織の細胞と異なる独自の働きをする機構を分子レベルから解明することを目的とした。さらに、研究項目 A 0 3「脳のシステム制御に関わる分子機構」(略称「システム制御」)においては、脳神経系の機能分子が実際に個体レベルで果たす役割を、神経細胞機能、神経回路機能さらには行動発現機能のレベルで解析することにより、脳の高次機能を可能にするシステム制御機構を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

脳神経系がどのようなメカニズムによって形成されるかという構築原理の統合的研究を推進するために、研究項目 A 0 1「神経細胞の運命決定及び動態に関与する分子」(運命決定)を設ける。本研究項目において、神経細胞の分化、形態形成、領域特異性などを細胞自立的に制御する分子を同定し、それらの分子の特徴や分子間相互作用を解明する。さらに、神経細胞とグリアの共通の起源となる神経幹細胞の性質を明らかにし、その運命を決定する機構を解明する。さらに、シナプス伝達や回路形成及びシナプスの活動依存的変化に関わる機能分子と動態さらに

それぞれの相互作用を明らかにし、脳高次機能の基礎にあるシナプス伝達とその可塑性のメカニズムの総合的理解を目指すために、研究項目A02「神経細胞の機能発現に関与する分子」(機能発現)を設ける。本研究項目において、神経細胞の特異的機能発現に関わる分子を探索するとともに、機能分子の神経細胞に於ける働きを明らかにすることにより、脳神経系が体の他の組織の細胞と異なる独自の働きをする機構を分子レベルから解明する。同時に、神経細胞、神経回路、システムの階層を貫いて、分子レベルから脳高次機能に迫る統合研究を推進するために、研究項目A03「脳のシステム制御に関わる分子機構」(システム制御)を設ける。本研究項目において、脳神経系の機能分子が実際に個体レベルで果たす役割を、神経細胞機能、神経回路機能さらに行動発現機能のレベルで解析することにより、脳の高次機能を可能にするシステム制御機構を明らかにする。

本総括班を設置することにより、分子脳領域の統合的な推進戦略を打ち立て、領域内および高次脳領域や回路領域との共同研究の推進、病態脳領域との連携、新規手法や視点の導入、独創的な研究の推進を図り、若手研究者の育成を目指す。

4. 研究成果

我が国において脳神経系の情報伝達を担う受容体やチャネルの解明をはじめ分子レベルからの先駆的脳研究が達成されてきた成果を基盤に、本特定領域研究「分子レベルからの脳機能構築機構の解明」(略称「分子脳科学」)は、生命現象の根幹である遺伝子・分子に基盤をおき、神経細胞の誕生から脳高次機能に至る3つの研究項目を設定することにより、分子脳科学の諸分野の力を結集し、分子レベルから脳高次機能に至る統合脳科学を推進した。分子脳科学領域の計画班員および公募班員により極めて活発な研究が展開され、多くの研究成果が発表された。

まず、皮質ニューロンの発生、神経幹細胞から神経分化への制御、神経上皮の領域化、神経突起形成、突起伸長、樹状突起形態の形成、シナプス形成、神経回路形成を調節・制御する機構の分子レベルでの解明が進展した。これらの成果により、神経幹細胞の増殖と分化からシナプス形成に至る神経回路網形成の鍵となるステップの分子機構が、細胞自律的な過程と細胞外環境に依存する過程の両側面から明らかにされ、神経回路網形成の全体像を分子レベルから解明する研究が推進された。また、軸索/樹状突起の運命決定、軸索輸送、軸索形成、転写因子の周期的変動によるニューロン分化制御、インシュリン・シグナル経路が学習行動を制御、てんかんの原因遺伝子がシナプス伝達を制御、感覚

性脳室周囲器官グリア細胞の Na_x チャンネルが乳酸によるGABAニューロンの活性化を介して塩分摂取行動の抑制につながることで、視覚野特異的発現遺伝子の視覚機能に於ける役割を明らかにした。これらの成果により、分子ネットワーク、神経ネットワーク、高次ネットワークの3つのレベルから神経細胞機能発現の分子機構解明が進展した。さらに、ユビキチンリガーゼによる神経伝達物質放出の調節、多様性分子CNR/プロトカドヘリンによる神経細胞の多様化と神経回路形成、GTPase活性化因子 α -chimerinによる運動ニューロン軸索投射の制御、サイレントシナプスの機能的シナプスへの変換による経験に依存した視覚反応形成、GluR δ 2によるシナプス結合の制御機構、大脳皮質、海馬、大脳基底核あるいは小脳特異的遺伝子改変マウスによる概日時計と記憶形成機構の連関、情動記憶形成への線条体の関与など学習のシステム制御に関する新知見が得られた。

これらの成果は一流の学術雑誌に発表され、主要論文(Impact Factorが7以上)は、Nature (31.434) 4報、Cell (31.253) 6報、Science (28.103) 13報、Neuron (14.170) 24報、Nature Neuroscience (14.164) 18報、Nature Cell Biology (17.774) 8報、Developmental Cell (12.882) 9報、Proc Natl Acad Sci USA (9.380) 56報、Journal of Neuroscience (7.452) 115報、Physiological Reviews (35.0) 1報、Nature Review of Neuroscience (25.940) 3報、Nature Genetics (30.259) 1報、Nature Medicine (27.553) 4報、Nature Immunology (25.113) 1報、Cell Metabolism (16.107) 2報、Nature Chemical Biology (14.612) 1報、Genes and Development (13.623) 5報、PLOS Biology (12.683) 1報、Molecular Psychiatry (12.534) 1報、Current Biology (10.777) 7報、Trends in Cell Biology (13.385) 1報、Current Opinions in Cell Biology (12.543) 4報、Journal of Cell Biology (9.120) 26報、EMBO Journal (8.295) 15報、Human Molecular Genetics (7.249) 11報、EMBO Report (7.099) 6報、Current Opinions in Neurobiology (8.102) 9報が挙げられる。これらの研究内容が学術誌や教科書で紹介され学術誌の表紙を飾るなど脳神経科学の分野に大きなインパクトを与えた。また、分子脳科学領域から得られた研究成果は多数の新聞報道により広く社会にも伝えられた。

分子脳科学領域の運営は、22回の総括班会議および10回の計画班会議で分子脳科学領域の推進方策を協議し、「bottom upを基本とし、優れた研究や共同研究を積極的に支援することにより、班員間の有機的な連携を推進する」との方針の下に、班会議は質疑応

答の時間を充分に取り意見交換を促進し、多くの班員から希望に基づき「脳科学におけるプロテオミクス手法の開発と普及」、「C57BL/6由来ES細胞を用いたコンディショナルノックアウトマウス作成支援」および「大規模データ解析による遺伝子改変マウスの行動テストバッテリーの標準化・効率化」の支援を実行し、光による神経活動の制御」や「in vivo 単一神経細胞イメージング」など最先端の方法論をテーマとして班員へのアンケートに基づき海外から6名の講演者を招きワークショップを開催するとともにソーシャルアワーを設け海外からの講演者と班員とくに若手の研究者が自由な雰囲気の中で交流できる機会を提供した。また、分子脳科学領域推進のため、パンフレット「分子脳科学から統合脳科学へ」、冊子「分子脳科学から統合脳科学へ：文部科学省特定領域研究「分子脳科学」研究成果 2005-2007」および冊子「分子脳科学実験法」を作成し、班員に配布した。本特定領域の期間を通して、分子脳科学領域の班員間のみならず統合脳5領域の班員との間で共同研究が活発に行われ、神経細胞、神経回路、システムの階層を貫いて、分子レベルから脳高次機能に迫る統合研究が推進された。

本特定領域研究では、計画研究を推進力に、公募研究も広く募集し、領域の総合的な推進、新規手法や視点の導入、独創的な研究と若手研究者の支援・育成を行った。さらに、遺伝子・分子レベルからの脳高次機能解明には脳の各階層における構造機能解析を必要とし、領域内外の研究者との共同研究を推し進めた。また、総括班をおき、分子脳科学から統合脳科学への発展を企画した。その結果、共同研究や支援および情報交換により分子脳科学領域からの統合脳科学が大きく進展することとなった。研究項目A01においては、神経細胞における細胞自律的な運命決定、および、細胞外環境との相互作用による神経細胞の動的制御のメカニズムを解明するために、神経前駆細胞の分化や増殖を制御する分子を同定し、神経細胞はいかにして生まれるのかを明らかにするとともに、神経細胞と細胞外マトリックスや標的細胞との相互作用に関わる分子を同定し、神経細胞が外界とどのようにしてコミュニケーションを取りながら神経回路を形成するかを明らかにすることを目指した。計画班員および公募班員の研究により、機能的な神経回路形成に関わる分子が多数同定され、それらが相互作用しながら複雑な神経回路を構築するメカニズムを明らかにすることができた。研究項目A02においては、神経細胞の特異的機能発現に関わる分子を探索するとともに、機能分子の神経細胞に於ける働きを明らかにすることにより、脳神経系が体の他の組織の細胞と異

なる独自の働きをする機構を分子レベルから解明することを目的とし、分子ネットワーク（転写因子、シグナル伝達分子）、神経ネットワーク（線虫温度走性、マウス塩分濃度調節）、高次脳機能形成（大脳皮質領野）の3つの異なるレベルにおいて、それぞれの機能を担う鍵分子の発見に成功した。更には、それらの機能を各ネットワークレベルで証明することができた。研究項目A03においては、大脳皮質、海馬、大脳基底核あるいは小脳特異的な分子操作が可能となり、高等動物の脳システムにおける神経細胞の多様性、経験に依存した視覚反応形成、概日時計と記憶形成の連関、情動記憶形成など学習のシステム制御に関する新知見が得られた。これらの研究により、脳神経系の構築原理、脳の発達過程の理解、脳高次機能の根底にある可塑性の分子基盤解明に貢献し、神経細胞、神経回路、システムの階層を貫いて、分子レベルから脳高次機能に迫る統合研究を切り開くことができ、当初の目的を十分に達成したと考えられる。

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)

[雑誌論文] (計 20 件)

- ① 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*, in press. (査読有)
- ② Lu, B., Wang K.H. & Nose, A. Molecular mechanisms underlying neural circuit formation. *Curr. Opin. Neurobiol.* 19, 162-167 (2009). (査読有)
- ③ Kohsaka, H & Nose, A. Target recognition at the tips of postsynaptic filopodia: accumulation and function of Capricious. *Development* 136, 1127-1135 (2009). (査読有)
- ④ Omura A, Matsuzaki T, Mio K, Ogura T, Yamamoto M, Fujita A, Okawa K, Kitayama H, Takahashi C, Sato C, Noda M. Reck forms cowbell-shaped dimers and inhibits matrix metalloproteinase-catalyzed cleavage of fibronectin. *J Biol Chem* 284,

- 3461-3469 (2009). (査読有)
- ⑤ Takahata, T., Komatsu, Y., Watakabe, A., Hashikawa, T., Tochitani, S. & Yamamori, T. Differential Expression Patterns of *occl*-Related Genes in Adult Monkey Visual Cortex. *Cereb Cortex*. 19, 1937-1951 (2009). (査読有)
- ⑥ Takaji, M., Komatsu, Y., Watakabe, A., Hashikawa, T. & Yamamori, T. Paraneoplastic Antigen-Like 5 Gene (PNMA5) Is Preferentially Expressed in the Association Areas in a Primate Specific Manner. *Cereb Cortex*. 19, 2865-2879 (2009). (査読有)
- ⑦ Takahata T, Higo N, Kaas J.H. & Yamamori, T. Expression of immediate-early genes reveals functional compartments within ocular dominance columns after brief monocular inactivation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 106, 12151-12155 (2009). (査読有)
- ⑧ Kishioka, A., Fukushima, F., Ito, T., Kataoka, H., Mori, H., Ikeda, T., Itohara, S., Sakimura, K. & Mishina, M. A novel form of memory for auditory fear conditioning at a low-intensity unconditioned stimulus. *PLoS ONE* 4, e4157 (2009). (査読有)
- ⑨ Takeuchi, T., Ohtsuki, G., Yoshida, T., Fukaya, M., Wainai, T., Yamashita, M., Yamazaki, Y., Mori, H., Sakimura, K., Kawamoto, S., Watanabe, M., Hirano, T. & Mishina, M. Enhancement of both long-term depression induction and optokinetic response adaptation in mice lacking *Delphilin*. *PLoS ONE* 3, e2297 (2008). (査読有)
- ⑩ Inaki, M., Yoshikawa, S., Thomas, J.B., Aburatani, H. & Nose, A. *Wnt4* is a local repulsive cue that determines synaptic target specificity. *Curr. Biol.* 17, 1574-1579 (2007). (査読有)
- ⑪ Kohsaka, H., Takasu, E. & Nose, A. In vivo induction of postsynaptic molecular assembly by the cell adhesion molecule *Fasciclin2*. *J. Cell Biol.* 179, 1289-1300 (2007). (査読有)
- ⑫ Okada, T., Keino-Masu, K., & Masu, M. Migration and nucleogenesis of mouse precerebellar neurons visualized by in utero electroporation of a green fluorescent protein gene. *Neurosci. Res.* 57, 40-49 (2007). (査読有)
- ⑬ Ihara M, Yamasaki N, Hagiwara A, Tanigaki A, Kitano A, Hikawa R, Tomimoto H, Noda M, Takanashi M, Mori H, Hattori N, Miyakawa T, Kinoshita M. *Sept4*, a component of presynaptic scaffold and lewy bodies, is required for the suppression of alpha-synuclein neurotoxicity. *Neuron* 53, 519-533 (2007). (査読有)
- ⑭ Muraguchi T, Takegami Y, Ohtsuka T, Kitajima S, Chandana EP, Omura A, Miki T, Takahashi R, Matsumoto N, Ludwig A, Noda M, Takahashi C. *Reck* modulates notch signaling during cortical neurogenesis by regulating *adam10* activity. *Nat Neurosci* 10, 838-845 (2007). (査読有)
- ⑮ Uemura, T., Kakizawa, S., Yamasaki, M., Sakimura, K., Watanabe, M., Iino, M., & Mishina, M. Regulation of long-term depression and climbing fiber territory by glutamate receptor $\delta 2$ at parallel fiber synapses through its C-terminal domain in cerebellar Purkinje cells. *J. Neurosci.* 27, 12096-12108 (2007). (査読有)
- ⑯ Mishina, M. & Sakimura, K. Conditional gene targeting on the pure C57BL/6 genetic background. *Neurosci. Res.* 58, 105-112 (2007). (査読有)
- ⑰ Shinza-Kameda, M., Takasu, E., Sakurai, K., Hayashi, S. & Nose, A. Regulation of layer-specific targeting by reciprocal expression of a cell adhesion molecule, *Capricious*. *Neuron* 49, 205-213 (2006). (査読有)
- ⑱ Kamimura, K., Koyama, T., Habuchi, H., Ueda, R., Masu, M., Kimata, K., & Nakato, H. Specific and flexible roles of heparan sulfate modifications in

Drosophila FGF signaling. J. Cell Biol. 174, 773-778 (2006). (査読有)

- ⑱ Nagamine, S., Koike, S., Keino-Masu, K., & Masu, M. Expression of a heparan sulfate remodeling enzyme, heparan sulfate 6-O-endosulfatase sulfatase FP2, in the rat nervous system. Brain Res. Dev. Brain Res. 159, 135-143 (2005). (査読有)
- ⑳ Takeuchi, T., Miyazaki, T., Watanabe, M., Mori, H., Sakimura, K. & Mishina, M. Control of synaptic connection by glutamate receptor $\delta 2$ in the adult cerebellum. J. Neurosci. 25, 2146-2156 (2005). (査読有)

[図書] (計1件)

- ① 三品昌美, 他、共立出版、神経の分化, 回路形成, 機能発現、2008年、297-595頁

[その他]

ホームページ

統合脳プラットフォーム

<http://ibr.neuroinf.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三品 昌美 (MISHINA MASAYOSHI)

東京大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：80144351

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

榊 正幸 (MASU MASAYUKI)

筑波大学・大学院人間総合科学研究所・教授

(H16～H19：分担研究者)

研究者番号：20243032

山森 哲雄 (YAMAMORI TETSUO)

自然科学研究機構・基礎生物学研究所・教授

(H16～H19：分担研究者)

研究者番号：80260206

野田 亮 (NODA MAKOTO)

京都大学・大学院医学研究科・教授

(H16～H19：分担研究者)

研究者番号：30146708

能瀬 聡直 (NOSE AKINAO)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・

教授 (H16～H19：分担研究者)

研究者番号：30260037