

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07076

研究課題名(和文) 大脳皮質領野間の重層的回路形成機構の解明

研究課題名(英文) Analysis on the mechanisms of circuit formation of multi-layered inter-areal connections in the cerebral cortex

研究代表者

岡 雄一郎 (Oka, Yuichiro)

大阪大学・連合小児発達学研究所・講師

研究者番号：30614432

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：大脳皮質の機能領野間での情報伝達は高次皮質機能に重要であるが、領野間回路の形成過程や形成機構は不明であった。我々は、マウスを用いて大脳皮質6層構造の中で2/3層と5a層に分布するPlxnd1発現ニューロンの軸索投射の様子を単一ニューロンレベルで解析し、領野間の連合性投射が、先行する大脳半球間の交連性投射から出芽する軸索側枝のうちの1本であることを見出した。この軸索側枝は、領野内の回路を作る他の軸索側枝と比べて伸長速度が速いことも明らかになった。また、同様に領野間の投射をもつ6b層のニューロンに発現するKcnab1遺伝子を同定し、皮質形成過程における発現変化や軸索投射との関係を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、独自に構築した大脳皮質領野間回路を単一ニューロンレベルで選択的に可視化する系を用いて、領野間の回路の形成過程を明らかにした。領野間回路は軸索側枝によるものであることから、その形成機構の解明は、複数領域への投射による脳内の並列回路の形成機構の解明に資するものである。自閉スペクトラム症にみられる運動機能の低下が1次体性感覚野と1次運動野の直接的な神経連絡の乱れと関連することが知られており、連合性回路の形成機構の解明により、その病態理解につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Direct connections between functional areas in the cerebral cortex is essential for higher cortical functions. However, developmental processes and mechanisms of such connections are yet to be fully elucidated. We analyzed axon projections of Plxnd1-expressing neurons in layers 2/3 and 5a in mouse cerebral cortex and found that ipsilateral inter-areal projections are formed as one of the axon collaterals budding from earlier-forming callosal axons connecting bilateral cerebral hemispheres. The collateral for inter-areal projection extended more rapidly than those for local circuit within an area. We also identified the Kcnab1 gene as expressed in layer 6b neurons with inter-areal projections and revealed its expression changes during cortical development and axon projections.

研究分野：神経科学

キーワード：神経回路網 神経回路形成 大脳皮質 長連合線維

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 大脳皮質の領野間回路とその形成

視床からの感覚入力は大脳皮質の一次感覚野の局所回路で処理された後、より高次の別の領野に送られて、他の感覚モダリティや個体の内部状態の情報と統合される。このような領野間の連合性回路は随意運動の制御や意思決定など大脳皮質の高次機能の発現に重要と考えられている。連合性回路の構造は、古くからサルやネコなどの系でトレーシング実験を中心に結合パターンが報告されているのに加え、近年では拡散テンソル画像によるトラクトグラフィ解析でヒトにおけるその線維走行が可視化されている。トレーシング実験からは、連合性回路を構成する連合 (association projection, AP) ニューロンは大脳皮質 6 層構造内の 2/3 層および 5 層に分布し、脳梁を通過して左右の大脳半球を結ぶ交連 (callosal projection, CP) ニューロンと混在していることが明らかになっている。また、連合性と交連性の両方の投射をもつ (dual projection, DP) ニューロンの存在も指摘されている。両方性の投射は回路形成過程における一過的な状態で、いずれ一方が失われて成体では AP ニューロンか CP ニューロンになると考えられていたが、サルでは 5% 程度 (Schwartz & Goldman-Rakic, *Nature*, 1982)、マウスでは層によっては半数程度 (Mitchell & Macklis, *J Comp Neurol*, 2005) のニューロンが、成体でも DP ニューロンとして検出されている。したがって、連合性回路は少なくとも AP ニューロンと DP ニューロンという 2 タイプのニューロンにより構成されている。AP ニューロンの軸索は、霊長類においては白質を通ることがわかっているが、げっ歯類で交連性投射の無い AP ニューロンの軸索を可視化した例はまだ報告がない。DP ニューロンについては、マウスでは、交連性の軸索は白質を通るのに対して、連合性の軸索は皮質内を通ることが示されている (Watakabe et al, *Front Neural Circuits*, 2014)。皮質内の連合性軸索の伸長過程に関しては、2/3 層のニューロンの軸索が 2/3 層と 5 層で軸索側枝 (水平投射) を出すことがよく知られている。はじめは枝分かれの無い軸索側枝を全方位に伸長し、ある時期になると軸索側枝が分枝し始めるものと退縮し始めるものが現れ、最終的にパッチ状の回路を形成する (Callaway & Katz, *J Neurosci*, 1990)。しかし、離れた領野間の回路の形成過程や、5 層ニューロンによる連合性回路の形成については未解明である。さらに、6b 層にも連合性回路をもつニューロンがあることが示されている (Mitchell & Macklis, *J Comp Neurol*, 2005) が、その形成も未解明である。

(2) *Plxnd1* プロモータを用いた連合性軸索側枝の可視化

連合性回路の形成過程に解析するためには、AP ニューロンか DP ニューロンに発現する遺伝子のプロモータを利用した回路の可視化が有用である。そのようなプロモータを同定するため、2 つのアプローチを採った。1 つ目のアプローチとして、AP、DP の両ニューロンが層特異的な分布を示すことに着目し、既知の層特異的遺伝子の中でこれらに発現するものを探索した。その中で、2/3 層と 5a 層に強い発現を示す *Plxnd1* 遺伝子に着目した。先行研究から、*Plxnd1* 遺伝子はこれらの層で交連性回路を構成するニューロンに発現していることが示されている (Molyneaux et al, *J Neurosci*, 2009)。我々は、*Plxnd1* に対する *in situ* hybridization (ISH) と逆行性トレーシングによる標識を組み合わせて 2 重染色を行い、*Plxnd1* は連合性回路を構成するニューロンにも発現することを見出した。つまり、*Plxnd1* は AP、CP、DP の全てに発現する可能性が考えられた。そこで、*Plxnd1* 遺伝子のプロモータを用いて *Plxnd1*-Cre ベクターを作製し、Cre 依存的に EGFP を発現する pCALNL-GFP と共に、胎生 15 日目 (E15) に子宮内電気穿孔法 (*in utero* electroporation, IUE) を行って 2/3 層のニューロンに導入した。生後 21 日目 (P21) に脳組織を取り出し、1 次体性感覚野 (S1) を含む領域にベクターが取り込まれたサンプルに関して、標識された連合性回路 (S1 から 1 次運動野 M1 への投射) の全体像を把握するため、大脳皮質部分を剥離して flat-mount にし、SeeDB 法 (Ke & Imai, *Nat Neurosci*, 2013) により透明化した。2 光子顕微鏡あるいは共焦点顕微鏡で S1 と M1 を含む領域の広範囲高深度イメージングを行って EGFP 陽性の軸索を可視化したところ、単一の *Plxnd1* 発現ニューロンは、白質を通る交連性の軸索と、5 層で分岐して M1 に到達する連合性の軸索の両方を持つ DP ニューロンであることが明らかになった。この両方性回路の形成過程の分子的な制御機構に関しては全く未解明である。Plexin-D1 は軸索ガイダンス分子として知られており (Chauvet et al, *Neuron*, 2007)、成体では *Plxnd1* は 5a 層、特異的リガンドである *Sema3e* は 5b 層及び 6 層という相補的な発現パターンを示す (Watakabe et al, *J Comp Neurol*, 2006) ので、そのシグナルが回路形成に関与している可能性があり、回路形成期の発現を調べる必要がある。

(3) AP ニューロン特異的遺伝子のスクリーニング

AP ニューロン特異的に発現する遺伝子を同定する 2 つめのアプローチとして、独自のスクリーニングを行った。S1 から M1 に投射する連合ニューロンを標識したマウスと S1 から対側の S1 (cS1) に投射する交連ニューロンを標識したマウスを用意し、前者からは 2/3 層、5a 層および 6b 層から、後者からは 2/3 層および 5a 層から、個々の標識ニューロンをレーザーマイクロダイセクションによって切り抜いて、それぞれ層ごとに約 1000 細胞ずつ集め、これら 5 つのサンプルの遺伝子発現プロファイルを DNA マイクロアレイで比較して連合ニューロンにより高い発現を示す遺伝子を AP 特異的遺伝子の候補とした。このスクリーニングでは DP ニューロンに発現する遺伝子は連合ニューロンと交連ニューロンのどちらかに高い発現を示すことはなく、例えば *Plxnd1* は両方で同程度の発現レベルを示した。こうして得られた候補遺伝子について、

ISH と逆行性トレーシングの 2 重染色を行い、実際に M1 に投射する S1 のニューロンに発現する遺伝子を絞り込んだ。

2. 研究の目的

本研究では、2/3 層の *Plxnd1* 発現 DP ニューロンの軸索側枝による連合性回路形成の過程と機構を明らかにする。また、5a 層ニューロンによる連合性回路形成の過程を解析し、2/3 層と比較する。そして、DP ニューロンの連合性回路形成の分子機構を明らかにする。特に、*Plxnd1-Sema3e* シグナルが関与するか検討する。また、独自のスクリーニングで得られた、*Plxnd1* 以外のプロモータを用いて、AP ニューロンによる純粋な連合性回路についても検討する。

3. 研究の方法

(1) 新たな低頻度ニューロン標識法の開発

大脳皮質はニューロンの密度が高く、層ごとにニューロン産生時期が異なることを利用した IUE 法による遺伝子導入では、個々のニューロンの軸索の識別は困難なため、まばらに標識する工夫が必要である。一般には Cre ドライバーを低濃度で用いて組換え頻度を下げるが、これは各細胞内のレポーターの発現低下につながる。そこで、Cre 依存的に Cre の発現を誘導・増幅する新規ベクター pCAGGS-DIO-iCre を構築した。これを低濃度の *Plxnd1-Cre* 及び Cre による組換え依存的に発現する蛍光タンパク質が tdTomato から EGFP に入れ替わるレポーター pCA-mTmG と共に IUE で 2/3 層ニューロンに導入し、まばらなニューロンを EGFP で標識できる系を確立した。

(2) 2/3 層の *Plxnd1* 発現ニューロンによる連合性回路の形成過程の解析

(1) で確立した系を用いて標識した 2/3 層の *Plxnd1* 発現ニューロンの軸索の様子を生後 3, 5, 7 日で観察・解析した。摘出した脳組織から大脳皮質部分を剥がして flat-mount にし、SeeDB2 法 (Ke et al., *Cell Rep* 2017) により透明化した後、長作動距離対物レンズを装着した共焦点顕微鏡により S1 と M1 を含む範囲の広範囲高深度イメージングを行った。取得したスタック画像において明るく標識されたニューロンの軸索を NeuroLucida 上でトレースした。得られたトレースに対し、NeuroLucida Explorer で各軸索側枝の長さを計測した。

(3) 連合性回路形成期における *Plxnd1-Sema3e* シグナル関連分子の発現解析

2/3 層ニューロンの軸索側枝の出芽期 (P3) から M1 に到達する時期 (P8) において、*Plxnd1* と *Sema3e*、および Plexin D1 の co-receptor とされる *Npn1* と *Npn2* の発現パターンを ISH により解析し、*Plxnd1* の発現パターンと比較した。

(4) *Plxnd1* の機能阻害実験

Plxnd1 の細胞内領域を欠失させた *Plxnd1* C、および R-Ras GAP ドメインの改変によって dominant negative 型にした dn*Plxnd1* の発現ベクターを作製し、(2) と同様にそれぞれ IUE で導入した。標識されたニューロンの軸索の様子を生後 5 日目において観察し、機能阻害が軸索側枝の伸長に影響を与えるか検討した。

MISSION shRNA ライブラリー (Sigma) から *Plxnd1* をターゲットとする shRNA を含むノックダウン・ベクターを 5 種類取得し、IUE で 2/3 層のニューロンに導入した。5 種類すべてを同時に導入した実験と、培養細胞系で測定したノックダウン効率が最も高かったベクターのみを導入した実験を行った。と同様、生後 5 日目において標識されたニューロンの軸索の様子を観察して効果の有無を検討した。

Plxnd1 に対する gRNA を 3 種類設計し、Cas9 発現ベクターとともに IUE で 2/3 層のニューロンに導入した。と同様、生後 5 日目において標識されたニューロンの軸索の様子を観察して効果の有無を検討した。

(5) 5a 層の *Plxnd1* 発現ニューロンによる連合性回路形成の解析

5a 層の *Plxnd1* 発現ニューロンを可視化するため、(2) と同様に IUE を行った。ただし IUE は 5a 層のニューロンが産生される胎生 13 日目に行った。生後 1, 3, 5 日目に摘出した脳組織から大脳皮質を剥がして flat-mount にし、抗 GFP 抗体と抗 VGluT2 抗体を用いて染色、SeeDB2 法により透明化を行い、長作動距離対物レンズ搭載の共焦点顕微鏡にてイメージングを行った。VGluT2 標識されるパレル構造より深層に位置する標識細胞を 5a 層の細胞として NeuroLucida により軸索をトレースした。

(6) AP ニューロン特異的遺伝子のプロモータによる連合性回路の解析

上述した DNA マイクロアレイによるスクリーニングの後、ISH と逆行性トレーシングの 2 重染色による絞り込みを行って得られた候補遺伝子のうち、6b 層に発現する *Kcnab1* 遺伝子について、皮質形成過程における発現動態を ISH で解析した。また、発現ニューロンの軸索投射パターン及び既知の 6b 層マーカー分子との共発現関係を解析した。

4. 研究成果

(1) 2/3層の *Plxnd1* 発現ニューロンによる連合性回路の形成過程について

多時点解析の結果から、M1 への投射は交連性の主軸索から生後 3 日目頃に 5 層で多数発芽する軸索側枝のうちの 1 本であること、この軸索側枝は M1 に到達するまでほとんど分岐しないこと、M1 に到達する軸索側枝は 1 本だけで他はほぼ S1 内あるいは周辺近傍領域に終わること、M1 への軸索側枝は一度 6 層に入る緩やかな放物線を描くことなどが明らかになった。生後 3, 5, 7 日目における軸索側枝の長さを測定したところ、M1 に伸びる軸索側枝は他の軸索側枝と比べて常に長く、その長さの差は軸索側枝の発芽直後から有意であり、しかも発達に連れて大きくなることが明らかになった。このことは、M1 に伸びる軸索側枝が局所回路を作る他の軸索側枝よりも速い速度で伸長していることを示唆している(論文投稿中)。

(2) 2/3層の *Plxnd1* 発現ニューロンによる連合性回路の形成機構について

連合性回路形成時期の *Sema3e*, *Npn1* および *Npn2* の発現パターンを ISH で解析した結果、*Sema3e* と *Npn1* は軸索側枝の発芽時期には軸索側枝が通過する層に発現していることが明らかになった。そこで、(1) で観察した M1 への連合性の軸索側枝の伸長パターンについて、*Plxnd1* がその過程に関与する可能性を *Plxnd1* C および *dnPlxnd1* の強制発現実験、shRNA によるノックダウン実験、CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集によるノックアウト実験で検証したが、いずれの場合も、コントロールと比較して顕著な影響は見られなかった。

(3) 5a層の *Plxnd1* 発現ニューロンによる連合性回路の形成過程について

5a層の *Plxnd1* 発現 DP ニューロンによる領野間回路形成は、2/3層と同様に交連性軸索から出芽する軸索側枝によるものであり、2/3層よりも 2 日程度早期に形成されていること、投射領域近傍で枝分かれして特定の 2 つの領域に投射することがわかった。

(4) 6b層の連合性回路の解析

DNA マイクロアレイを用いたスクリーニングにより AP ニューロンに特異的な遺伝子の候補として、重層的な領野間回路を形成するもう一つの層である 6b 層に発現する *Kcnab1* 遺伝子が得られ、ISH と逆行性トレーシングによる 2 重染色の結果、M1 に投射するが対側への投射はない AP ニューロンの約 80% に発現することが明らかになった。M1 への投射は生後 2 日目にはすでに M1 へ到達しており、5a 層の回路よりもさらに早期に形成されていることが明らかになった。*Kcnab1* と既存の 6b 層のマーカー分子 (CTGF, *Cmpx3*, *Nurr1*) の発現分布を比較したところ、共発現の割合はマーカーごとに異なっていた。これらの結果は論文として発表した (Tiong et al., *Front Neuroanat*, 2019)。

<引用文献>

- Callaway EM. and Katz L. (1990) Emergence and refinement of clustered horizontal connections in cat striate cortex. *J. Neurosci.* **10** (4): 1134-1153.
- Chauvet S., Cohen S., Yoshida Y., et al. (2007) Gating of *Sema3E*/*PlexinD1* Signaling by *Neuropilin-1* Switches Axonal Repulsion to Attraction during Brain Development. *Neuron* **56**, 807-822.
- Ke MT., Fujimoto S., and Imai T. (2013) SeeDB: a simple and morphology-preserving optical clearing agent for neuronal circuit reconstruction. *Nat. Neurosci.* **16** (8): 1154-61.
- Ke MT., Nakai Y., Fujimoto S., et al. (2017) Super-Resolution Mapping of Neuronal Circuitry With an Index-Optimized Clearing Agent. *Cell Rep.* **14** (11): 2718-32.
- Mitchell BD. and Macklis JD. (2005) Large-scale maintenance of dual projections by callosal and frontal cortical projection neurons in adult mice. *J. Comp. Neurol.* **482** (1): 17-32.
- Molyneaux BJ., Arlotta P., Fame RM., et al (2009) Novel Subtype-Specific Genes Identify Distinct Subpopulations of Callosal Projection Neurons. *J. Neurosci.* **9** (39): 12343-12354.
- Schwartz ML. and Goldman-Rakic PS. (1982) Single cortical neurones have axon collaterals to ipsilateral and contralateral cortex in fetal and adult primates. *Nature* **299** (5879): 154-155.
- Tiong SYX., Oka Y., Sasaki T., et al. (2019) *Kcnab1* Is Expressed in Subplate Neurons With Unilateral Long-Range Inter-Areal Projections. *Front. Neuroanat.* **13**: 39.
- Watakabe A., Ohsawa S., Hashikawa T., et al. (2006) Binding and Complementary Expression Patterns of Semaphorin 3E and Plexin D1 in the Mature Neocortices of Mice and Monkeys. *J. Comp. Neurol.* **499**: 258-273.
- Watakabe A., Takaji M., Kato S., et al. (2014) Simultaneous visualization of extrinsic and intrinsic axon collaterals in Golgi-like detail for mouse corticothalamic and corticocortical cells: a double viral infection method. *Front. Neural Circuits* **8**: 110.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Xie M.-J., Ishikawa Y., Yagi H., Iguchi T., Oka Y., Kuroda K., Iwata K., Kiyonari H., Matsuda S., Matsuzaki H., Yuzaki M., Fukazawa Y., Sato M.	4. 巻 9
2. 論文標題 PIP3 -Phldb2 is crucial for LTP regulating synaptic NMDA and AMPA receptor density and PSD95 turnover.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 4305
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-40838-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Tiong S.Y.X., Oka Y., Sasaki T., Taniguchi M., Doi M., Akiyama H., Sato M.	4. 巻 13
2. 論文標題 Kcnab1 is expressed in subplate neurons with unilateral long-range inter-areal projections.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Front Neuroanat	6. 最初と最後の頁 39
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnana.2019.00039	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Ahuja G., Reichel V., Kowatschew D., Syed A.S., Kotagiri A.K., Oka Y., Weth F., Korsching S.I.	4. 巻 19
2. 論文標題 Overlapping but distinct topology for zebrafish V2R-like olfactory receptors reminiscent of odorant receptor spatial expression zones.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 BMC Genomics	6. 最初と最後の頁 383
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1186/s12864-018-4740-8.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計18件（うち招待講演 2件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Yuichiro Oka, Sheena Y. X. Tiong, Tatsuya Sasaki, Miyuki Doi, Manabu Taniguchi, Makoto Sato
2. 発表標題 Kcnab1 is an early marker for subplate of the mouse cerebral cortex and expressed in cortico-cortical projection neurons in layer 6b
3. 学会等名 Neuro2019（第42回日本神経学会大会/第62回日本神経化学大会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡 雄一郎、土井 美幸、谷口 学、猪口 徳一、佐藤 真
2. 発表標題 単一大脳皮質2/3層ニューロンによる長連合性および交連性回路の形成過程の解析
3. 学会等名 第46回日本脳科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Oka Yuichiro, Tiong Sheena Y.X., Yahaya Murtala Hamza, Sasaki, Tatsuya, Doi Miyuki, Yasumura Misato, Taniguchi Manabu, Sato Makoto.
2. 発表標題 An early subplate marker Kcnab1 is expressed in cortico-cortical projection neurons in layer 6b in the mouse neocortex.
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 土井美幸、岡雄一郎、佐藤真
2. 発表標題 発達段階の大脳新皮質において、Hsd11b1発現領域は一時的に拡大する
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Oka Y., Lin Y., Tiong Y.X.S., Sasaki T., Doi M., Iguchi T., Sato M.
2. 発表標題 Long associational projections of Plxnd1-expressing cortical neurons are formed by interstitial collaterals from the callosally-projecting primary axonal shaft
3. 学会等名 22nd Biennial Meeting of the International Society for Developmental Neuroscienc (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Oka Y., Lin Y., Tiong Y.X.S., Sasaki T., Doi M., Iguchi T., Sato M.
2. 発表標題 Elevated extension speed for a selected long associational collateral of a single cortical dual-projection neuron
3. 学会等名 2018 Joint Meeting between The Neurodevelopmental Biology Section of The Korean Society for Molecular and Cellular Biology and Japanese Developmental Neuroscientist (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tiong S., Oka Y., Sasaki T., Sato M.
2. 発表標題 Potassium channel subunit Kcnab1 is expressed in cortical layer 6b long-range corticocortical projection neurons
3. 学会等名 11th FENS Forum of Neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡雄一郎, 林由佳, Sheena Y. X. Tiong, 佐々木達也, 土井美幸, 猪口徳一, 佐藤真
2. 発表標題 単一皮質ニューロンは軸索毎に異なる伸長速度により複数領野へ同調的に投射する
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 林由佳, 岡雄一郎, 佐藤真
2. 発表標題 パレル皮質におけるPlxnd1発現第5a層ニューロンの軸索伸展様式の解析
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 張 永欣, 岡 雄一郎, 佐藤 真
2. 発表標題 Molecular characterisation and axon projection pattern of deep cortical layer 6 neurons in mouse
3. 学会等名 第64回日本生化学会近畿支部例会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Y. Oka, Y. Lin, M. Hattori, S.Y.X. Tiong, M. Doi, T. Iguchi, M. Sato
2. 発表標題 Developmental analysis of the inter-areal connections from cortical neurons in different layers
3. 学会等名 第40回日本神経科学大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 S.Y.X. Tiong, Y. Oka, T. Sasaki, M. Sato
2. 発表標題 A potassium channel subunit as a novel molecular marker for long-range projection neurons in the earliest-formed cortical layer
3. 学会等名 第40回日本神経科学大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Y. Oka, Y. Lin, M. Hattori, S.Y.X. Tiong, M. Doi, T. Sasaki, T. Iguchi, M. Sato
2. 発表標題 Distant area-targeting axonal branches of layer 2/3 neurons develop more rapidly than locally targeting branches in mouse neocortex
3. 学会等名 第48回生理研国際シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 林由佳, 岡雄一郎, 佐藤真
2. 発表標題 発生過程における一次体性感覚野内の第5層神経細胞の軸索側枝伸展
3. 学会等名 第93回日本解剖学会近畿支部学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Y. Lin, Y. Oka, M. Sato
2. 発表標題 Analysis on axonal development of Plxnd1-expressing L5a neurons in the barrel cortex
3. 学会等名 第11回神経発生討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Makoto Sato, Yuichiro Oka
2. 発表標題 Inter-areal collateral branches of layer 2/3 neurons grow more rapidly than intra-areal collateral branches in the mouse neocortex
3. 学会等名 第123回日本解剖学会総会・全国学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡 雄一郎、林 由佳、Tiong Sheena、土井 美幸、佐々木 達也、猪口 徳一、佐藤 真
2. 発表標題 大脳皮質ニューロン軸索側枝による領野間回路形成過程の解析
3. 学会等名 第95回日本生理学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 土井美幸、岡雄一郎、佐藤真
2. 発表標題 マウス体性感覚野における交連及び連合ニューロン発現遺伝子のスクリーニングとその比較解析
3. 学会等名 第94回日本解剖学会近畿支部学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 非相同末端結合と相同組換えを組み合わせたゲノム編集ノックイン法	発明者 真下知士, 岡雄一郎 (6番目)ら (計7名)	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-072782	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

<p>大阪大学大学院医学系研究科解剖学講座（神経機能形態学） http://www.anat2.med.osaka-u.ac.jp/index.html</p>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	佐藤 真 (Sato Makoto) (10222019)	大阪大学・連合小児発達学研究所・教授 (14401)	