

令和 3 年 5 月 29 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06512

研究課題名（和文）大脳皮質における細胞タイプ特異的な機能的微小カラムの発生機構

研究課題名（英文）Mechanism of subtype-specific functional microcolumn development in the cerebral cortex

研究代表者

丸岡 久人（Maruoka, Hisato）

東京大学・大学院医学系研究科（医学部）・助教

研究者番号：60443032

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：近年、我々はマウス大脳皮質の様々な領域で第5層の主要なニューロンが細胞タイプ特異的に微小カラムを形成していることを見出した。微小カラムは非常に重要な機能的細胞構築と考えられるが、細胞タイプ特異的な微小カラムが発生過程でどのように形成されるのかは不明である。研究課題では機能的微小カラムの発生機構を明らかにすることを目指した。大脳発生期において微小カラムを構成する神経細胞の放射状移動に細胞タイプ特異性が存在することを示唆するデータを得ることができた。また同時期において既に微小カラム構造が存在することを示すデータを得た。これらの結果は微小カラムの発生機構に新たな示唆を与える。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大脳皮質のtangential方向における細胞タイプ特異的な秩序構造の存在はこれまでほとんど不明であったため、我々が見出した大脳皮質第5層の細胞タイプ特異的な機能的微小カラムとそれらが形成する格子構造は新規の秩序構造である。したがって本研究は大脳発生研究においてtangential方向の細胞タイプ特異的な秩序構造の発生機構に初めて迫る先駆的な研究と考えられるため、本研究の研究成果は大脳発生研究に新たな概念の創造に貢献する。また同時に得られた知見が大脳皮質構造が破綻した疾患研究に応用することにより広く社会に還元することが可能である。

研究成果の概要（英文）：Recently, we found that major neuronal subtypes in layer 5 form subtype-specific microcolumns in multiple cortical areas of the mouse neocortex. Microcolumns have also been reported in layer 5 of the human language cortex, suggesting that they are a universal structure across species. However, it is unclear how subtype-specific microcolumns are formed during cortical development. In this research project, we aimed to clarify the mechanism of microcolumn formation by asking whether subtype-specific radial migration of excitatory neurons is the basis for the formation of microcolumns. Spatial structural analysis was performed in brains immediately after the completion of radial migration of layer 5 neurons. The data suggest the existence of subtype specificity in radial migration. In addition, we obtained data indicating that microcolumns already existed at the same age. These results provide new insights into the mechanism of microcolumn formation.

研究分野：神経科学

キーワード：大脳皮質 機能単位回路 マイクロカラム

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 約100億個の多種多様なニューロンにより構成される大脳皮質は機能と対応した3次元的に精緻な細胞構築を有することがわかってきたが、その機能的細胞構築の発生機構はいまだ不明な点が多い。

(2) 近年、応募者らはマウス大脳皮質の様々な領野で第5層の主要なニューロンが細胞タイプ特異的にカラム状の細胞クラスター(以下、微小カラム)を形成していることを見出した(Maruoka et al., J. Neurosci., 2011; Maruoka et al., Science, 2017)。さらに第5層興奮性ニューロンのサブタイプの1つである皮質下投射ニューロン(以下、SCPN)が形成する微小カラムに注目して解析したところ、微小カラムは脳表に平行な2次元平面上で六方格子状に配列していた。また生理学的解析から同一の微小カラムに属する興奮性ニューロンは、生まれた直後では一過性にgap結合を介した電氣的結合を形成する、成獣期では共通の入力を受ける、覚醒状態の成獣マウス脳で類似した刺激応答性および同期活動を示す、ことを明らかにし、大脳皮質第5層が細胞タイプ特異的な機能的微小カラムとその格子構造に高度に組織化されていることを示した(Maruoka et al., Science, 2017)。

(3) 微小カラムはヒト言語野第5層でも報告されており(Kwan et al., Cell, 2012)種を越えて普遍的な構造であることが示唆される。以上から微小カラムは非常に重要な機能的細胞構築と考えられるが、細胞タイプ特異的な微小カラムが発生過程でどのように形成されるのかは不明である。

### 2. 研究の目的

(1) 大脳発生では脳室帯の神経幹細胞である放射状グリア細胞から分化した興奮性ニューロンは放射状グリア細胞が脳表まで伸ばす繊維(以下、radial fiber)を登って、自身が最終的に配置する皮質層まで脳表側に向かって脳表に垂直な方向に移動する(以下、radial migration)。微小カラムの発生機構について同一の微小カラムに属するニューロンはそれぞれ異なる放射状グリア細胞から分化したニューロンで構成されている(Maruoka et al., J. Neurosci., 2011)ため、同じ放射状グリア細胞から生じた近縁のニューロンがradial migrationにより並んで微小カラムを形成するという単純なモデルは否定される。

(2) そこで本研究課題では「細胞タイプ特異性に基づく興奮性ニューロンのradial migrationが機能的微小カラムの形成基盤か」を問うことで、機能的な微小カラムの発生機構を明らかにするとともに、大脳発生研究において細胞多様性の観点から新たな概念を創造することを目指した。

### 3. 研究の方法

(1) 大脳発生期においてSCPNを緑色蛍光タンパク質であるEGFPで蛍光標識することが可能なBACトランスジェニックマウスを用いてSCPNを蛍光標識した。もしくはSCPN分子マーカールに対する免疫組織染色を用いてSCPNの蛍光標識をおこなった。同時に子宮内エレクトロポレーション法により赤色蛍光タンパクであるDsRed2を用いてradial fiberを可視化した。

(2) 2光子励起顕微鏡を用いて3次元画像データを取得し空間構造解析を行なった。解析にはMATLABによる自作プログラムを用いた。

### 4. 研究成果

(1) SCPNのradial migrationが終了する直後において空間構造解析を行い、radial migrationに細胞タイプ特異性が存在することを示唆するデータを得ることができた。

(2) また同時期において既に微小カラム構造が存在することを示すデータを得た。

(3) これらの結果は微小カラムの発生機構に新たな示唆を与える。

#### <引用文献>

Kwan KY, Lam MM, Johnson MB, Dube U, Shim S, Rašin MR, Sousa AM, Fertuzinhos S, Chen JG, Arellano JI, Chan DW, Pletikos M, Vasung L, Rowitch DH, Huang EJ,

Schwartz ML, Willemsen R, Oostra BA, Rakic P, Heffer M, Kostović I, Judaš M, Sestan N: *Cell*, **149(4)**: 899-911, 2012.

Maruoka H, Kubota K, Kurokawa R, Tsuruno S, Hosoya T: *J. Neurosci.*, **31(50)**: 18552-18542, 2011

Maruoka H, Nakagawa N, Tsuruno S, Sakai S, Yoneda T, Hosoya T: *Science*, **358(6363)**: 610-615, 2017.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yoneda Taisuke, Sakai Seiichiro, Maruoka Hisato, Hosoya Toshihiko	4. 巻 39
2. 論文標題 Large-scale Three-dimensional Imaging of Cellular Organization in the Mouse Neocortex	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Visualized Experiments	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3791/58027	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 細谷 俊彦、中川 直、米田 泰輔、丸岡 久人	4. 巻 70
2. 論文標題 総説 大脳皮質の単位回路	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 BRAIN and NERVE	6. 最初と最後の頁 1381 ~ 1388
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11477/mf.1416201197	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 丸岡久人、細谷俊彦
2. 発表標題 大脳皮質における出力マイクロカラムの神経活動に対するトップダウン調節
3. 学会等名 日本神経科学大会2018
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------