

自己評価報告書

平成 23 年 4 月 30 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008 ～ 2011

課題番号：20300119

研究課題名 (和文) 大脳皮質の層構造と層特異的神経回路網形成のメカニズム

研究課題名 (英文) Mechanism of laminar formation of cerebral cortex and layer-specific neural circuits

研究代表者

寺島 俊雄 (TERASHIMA TOSHIO)

神戸大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：20101892

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学 神経解剖学・神経病理学

キーワード：リーリン、Dab1、reeler、yotari、大脳皮質、層形成

1. 研究計画の概要

本研究計画では、プレプレートが分子層とサブプレートに分離する機構や皮質板内でインサイド・アウトパターンが形成される機構の破綻の結果、大脳皮質の層構築に異常を呈したミュータント動物(リーラー、SRK ラット、ヨタリ、p35 ノックアウトマウス、PAFAH \square 1 ノックアウトマウス)を用いて、(1)プレプレート、サブプレート、スーパープレートの特異的染色、(2)層特異的な線維連絡を利用した神経標識法や層特異的分子マーカーを用いた免疫組織化学法、(3)それぞれの原因遺伝子の cRNA プロブや抗体を用いた *in situ hybridization* 法と免疫組織化学法、(4) BrdU を利用した Birth Date ラベリング法、(5) GFP 遺伝子導入により神経芽細胞を標識し、コラーゲンゲル三次元培養環境下におけるニューロン移動のタイムラプス顕微鏡観察、(6)シナプトフィジン-GFP、PSD-95-GFP トランスジェニックマウス胚とミュータント動物胚由来組織片の共培養により、プレプレートの分離機構と皮質板内におけるインサイド・パターン形成のメカニズムとその破綻、および大脳皮質層特異的線維結合の形成メカニズムについて明らかにする。

2. 研究の進捗状況

先行する研究により大脳皮質において層特異的に発現する遺伝子が多数報告されているが、我々は予備的にさまざまな遺伝子の中から mSorLA、ROR-beta、ER81、Tbr1 の 4 つの遺伝子の発現が大脳皮質における発現が明瞭に検出できたので、今年度は、これらの遺伝子の発現を指標にして reeler 変異の表現型の解析を行った。長く reeler マウス大脳皮質

の層構造は逆転するとされてきたが、reeler の形態異常について上記の層特異的分子マーカーの遺伝子発現を指標にして層構造を特徴とする領域を観察した結果、reeler 脳はニューロン集団の凝集(コンパクション)に障害があり、その結果、各層を構成するニューロンが混在し、層の境界が不明瞭となることが判明した。同様な観察は reeler マウスの脊髄後角、蝸牛神経背側核、疑核等でも報告されている。以上の観察は Reelin シグナルがホモフィリックなニューロンの凝集に必要な因子であることを示唆している。reeler の大脳皮質でも ROR-beta 発現ニューロンは広く分散することはなかった。このことは ROR-beta 発現細胞の凝集には Reelin シグナル以外の分子機構も関与している可能性を示唆する。同様に reeler においても嗅球では層構造の乱れは軽微であり、これらの層構造形成には Reelin 非依存的な分子機構が存在すると考えられる。特筆すべきは、従来より繰り返して報告されている reeler 大脳皮質の逆転構造は観察されなかった。reeler の形態異常はこれまで述べられてきた様な単純な層構造の逆転ではなく、いくつかの形態形成機構の異常が混在した複雑なものであることを示唆している。

3. 現在までの達成度

区分：②おおむね順調に進展している。
理由：大脳皮質の層形成について各種の層マーカーを用いて、ミュータントマウス(リーラー、ヨタリ)の大脳皮質の形成について明らかにした。またヨタリとリーラーの層特異的神経結合について明らかにした。一方、培養系を用いた *in vitro* 実験系は遅れている。

4. 今後の研究の推進方策

- (1) 培養系を用いた in vitro 実験系を推進する。
- (2) 電気穿孔法により GFP トランスジーンの大脳皮質導入を行う。

5. 代表的な研究成果

(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 15 件)

- 1) Yoshihara Y, Setsu T, Katsuyama Y, Kikkawa S, Terashima T, Maeda K. Cortical layer V neurons in the auditory and visual cortices of normal, reeler, and yotari mice. *Kobe J Med Sci.* 2010; 56(2): E50-9. 査読有
- 2) Takano A, Zochi R, Hibi M, Terashima T, Katsuyama Y. Expression of strawberry notch family genes during zebrafish embryogenesis. *Dev Dyn.* 2010; 239(6): 1789-96. 査読有
- 3) Dekimoto H, Terashima T, Katsuyama Y. Dispersion of the neurons expressing layer specific markers in the reeler brain. *Dev Growth Differ.* 2010; 52: 181-93. 査読有
- 4) Kassai H, Terashima T, Fukaya M, Nakao K, Sakahara M, Watanabe M, Aiba A. Rac1 in cortical projection neurons is selectively required for midline crossing of commissural axonal formation. *Eur J Neurosci.* 2008; 28: 257-67. 査読有
- 5) Ichinohe N, Knight A, Ogawa M, Ohshima T, Mikoshiba K, Yoshihara Y, Terashima T, Rockland KS. Unusual patch-matrix organization in the retrosplenial cortex of the reeler mouse and Shaking rat Kawasaki. *Cereb Cortex.* 2008; 18: 1125-38. 査読有

[学会発表] (計 21 件)

- 1) Terashima T. The cytoarchitectonic abnormalities in Reelin-deficient mouse, reeler. Symposium: Brain Development. The Annual Meeting of Indonesian Anatomist Meeting. August 7, 2009 (Yogyakarta, Indonesia).
- 2) Kikkawa S., Sato Y., Takahashi Y, and Terashima T. Functional analysis of the Reelin signaling pathway in zebrafish. "Construction and Reconstruction of the

Brain" October 8-10, 2009 (Awaji, Japan).

- 3) 吉川知志, 佐藤友加里, 寺島俊雄. セルフラフィッシュの神経系発生における Reelin (リーリン) シグナル系の機能解析. 第 115 回日本解剖学会総会・全国学術集会 2010 年 3 月 28 日 (盛岡)
- 4) 寺島俊雄, Shymaa E. Bilasy, 佐藤孝哉, 上田修司, 金村星余, 饗場 篤, 片岡 徹. 背側終脳特異的 RA-GEF-1 ノックアウトマウスは大脳皮質へテロトピアと交連線維系の欠損を示す第 32 回日本神経科学大会 2009 年 9 月 16 日 (名古屋)
- 5) 寺島俊雄, 葛西秀俊, 饗場 篤. Rac1 ノックアウトマウス大脳皮質の層構築と神経回路 (Laminar structure and neural circuit of cerebral cortex of Rac1 knockout mouse) 第 83 回日本解剖学会近畿支部学術集会 2008 年 10 月 29 日 (大阪)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]