

八木 健

大阪大学大学院生命機能研究科
教授

神経細胞の個性がつくる神経回路とセルアセンブリ

§ 1. 研究実施体制

(1)「八木」グループ

① 研究代表者: 八木 健 (大阪大学大学院生命機能研究科、教授)

② 研究項目

- ・ cPcdh の個々の神経細胞での発現解析
- ・ cPcdh のランダムな発現による神経細胞の個性についての数理的解析
- ・ cPcdh 多様性減少マウスの作製と解析
- ・ 興奮性神経細胞での CTCF 欠損マウス作製による cPcdh 発現制御と大脳皮質の体性感覚野バレル形成の解析
- ・ cPcdh 遺伝子全欠損マウスの作製
- ・ iPS 細胞を用いた cPcdh 発現制御の解析

(2)「澁木」グループ

① 主たる共同研究者: 澁木 克栄 (新潟大学脳研究所、教授)

② 研究項目フラビン蛋白蛍光イメージングと2光子顕微鏡を用いた大脳皮質高次感覚野の解析

(3)「平林」グループ

① 主たる共同研究者: 平林真澄 (生理学研究所、准教授)

② 研究項目

- ・ 野生型マウス由来 iPS 細胞、cPcdh 遺伝子全欠損マウス由来 iPS 細胞からのキメラ個体作製
- ・ キメラ個体の大脳皮質における電気生理学的解析

§ 2. 研究実施の概要

脳を構成する神経細胞は個性をもちながら複雑な神経回路をつくり、集団として活動している。本研究では、この神経細胞の個性ができる仕組みに着目し、神経回路の構築と機能形成の原理の解明をめざしている。私たちは、これまでに 50 種類の遺伝子がゲノム DNA 上に存在するクラスター型プロトカドヘリン (cPcdh) 遺伝子群を単離・同定することに成功し、個々の神経細胞において異なった組み合わせで発現していることを明らかにしてきた。本研究では、この cPcdh 分子群の個々の神経細胞での発現機構と神経ネットワーク形成機構に着目して複雑なニューラルネットワークが形成されるメカニズムを明らかにすること、複雑なニューラルネットワークを操作することにより脳システムの動作原理を明らかにすることを目標としている。

本年度は、生体内における cPcdh 遺伝子群の DNA メチル化制御メカニズムの解析を行った。その結果、主な神経細胞の産生が見られる以前のマウス胎生3日目から9日目にかけて、メチル基転移酵素 Dnmt3b が細胞ごとに異なるメチル化パターンを形成することを明らかにした。Dnmt3b 欠損マウスは胎生致死となるため、Dnmt3b 欠損マウスから iPS 細胞を樹立し、野生型の胚に注入することでキメラマウスを作製した。これらのマウスは生後も生存し、脳では Dnmt3b 欠損の神経細胞を確認した。小脳にあるプルキニエ細胞の形態を解析したところ、野生型細胞に比べ Dnmt3b 欠損細胞では樹状突起の重なりや束が多く認められ、Dnmt3b が樹状突起のパターン形成に必須であることを明らかにした。次に、個々のプルキニエ細胞における cPcdh 遺伝子群の発現を解析するために、キメラマウスの小脳の細胞をピックアップして、集積微小流体回路 (ナノリットルスケールで定量 PCR ができる回路) を用いて単一細胞における遺伝子発現解析を行った。その結果、野生型のプルキニエ細胞では細胞ごとに異なる cPcdh 遺伝子がランダムに発現していたのに対し、個々の Dnmt3b 欠損プルキニエ細胞では cPcdh 遺伝子の発現確率が増大し、すべての cPcdh 遺伝子を発現している細胞も観察された。この結果により、発生初期の Dnmt3b 依存的な DNA メチル化は個々の神経細胞におけるエンハンサー依存的な cPcdh 遺伝子群のランダムな発現を制御し、神経細胞の個性化や精緻な回路形成に重要であることが明らかになった (Toyoda et al., Neuron 2014)。さらに、マウスを用いた空間感覚のブレを調整する脳内ブレ補正メカニズムを発見した。マウスはヒゲによる体性感覚と視覚によって空間情報を得ているが、体の大きさが変化する成長期ではそれぞれの空間情報を脳内で調整して行く必要がある。本年度は、この視覚と体性感覚による空間情報統合が大脳皮質の活動変化を捉え、両感覚が交差する後部頭頂連合野が脳内ブレ補正メカニズムに重要であることを明らかにした。また、この空間情報統合に cPcdh- α が関わっていることを明らかにすることに成功した (Yoshitake et al., Cell Rep 2013)。これらの結果により、cPcdh が個々の神経細胞の緻密な回路形成とともに、脳の統合的機能に関与することが明らかになった。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

論文詳細情報

1. Honma Y, Tsukano H, Horie M, Ohshima S, Tohmi M, Kubota Y, Takahashi K, Hishida R, Takahashi S, Shibuki K. (2013) Auditory cortical areas activated by slow frequency-modulated sounds in mice. *PLoS One* 8: e68113. (DOI: 10.1371/journal.pone.0068113)
2. Yoshitake K, Tsukano H, Tohmi M, Komagata S, Hishida R, Yagi T, Shibuki K. (2013) Visual map shifts based on whisker-guided cues in the young mouse visual cortex. *Cell Rep* 5: 1365-1374. (DOI: 10.1016/j.celrep.2013.11.006)
3. Toyoda S, Kawaguchi M, Kobayashi T, Tarusawa E, Toyama T, Okano M, Oda M, Nakauchi H, Yoshimura Y, Sanbo M, Hirabayashi M, Hirayama T, Hirabayashi T, Yagi T. (2014) Developmental epigenetic modification regulates stochastic expression of clustered Protocadherin genes, generating single neuron diversity. *Neuron* (in press).

(3-2) 知財出願

- ① 平成 25 年度特許出願件数 (国内 0 件)
- ② CREST 研究期間累積件数 (国内 1 件)