

「脳神経回路の形成・動作原理の解明と制御技術の創出」  
平成 23 年度採択研究代表者

H26 年度  
実績報告書

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
  - ・神経細胞の個性化と神経回路形成メカニズムの解析

### (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 (生理学研究所行動代謝分子解析センター、准教授)
- ② 研究項目
  - ・iPS 細胞キメラマウスを用いた神経細胞の個性による神経ネットワーク形成の解析

## § 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す。本研究では、私たちが単離・同定したクラスター型プロトカドヘリン (Pcdh)

遺伝子群が、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に着目し、神経細胞の個性を操作する技術を開発し、神経ネットワーク形成や高次脳機能の制御への役割を明らかにすることを目標としている。

平成 26 年度は、個々の神経細胞における Pcdh 遺伝子群のランダムな発現メカニズムにおいて、Pcdh プロモーター領域の DNA メチル化が関与していることを明らかにした。また、その DNA メチル化は、胚発生初期に DNA メチル化酵素 Dnmt3b により、細胞ごとに異なるパターンで行われる。この Dnmt3b を欠損させたマウスの線維芽細胞から iPS 細胞株を樹立し、キメラマウス作製によるモザイク解析により、個々のプルキンエ細胞における Pcdh 遺伝子群のランダム発現には Dnmt3b が必要なことを明らかにした (Toyoda et al., 2014)。また、プルキンエ細胞の正常な樹状突起形成に、Pcdh- $\gamma$  の関与が示唆されていたが、Dnmt3b 欠損でも同様の自己反発活性異常となることが明らかとなった。更に、個々の神経細胞におけるランダムな発現制御には、遺伝子クラスター構造が重要であり、遺伝子クラスター内での Pcdh アイソフォームの位置が重要であること (Kaneko et al., 2014)。Pcdh- $\alpha$  が視神経軸索の視床外側膝状体への正確な投射に関連していることを明らかにした (Meguro et al., 2015)。

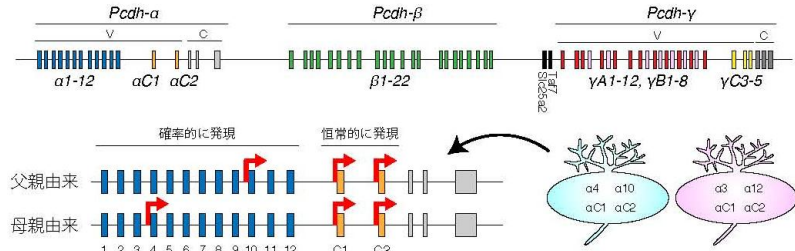


図 1 クラスター型プロトカドヘリンの遺伝子クラスター構造 (Pcdh- $\alpha$ 、Pcdh- $\beta$ 、Pcdh- $\gamma$ ) と、個々の神経細胞での確率的な遺伝子発現と恒常的な遺伝子発現。

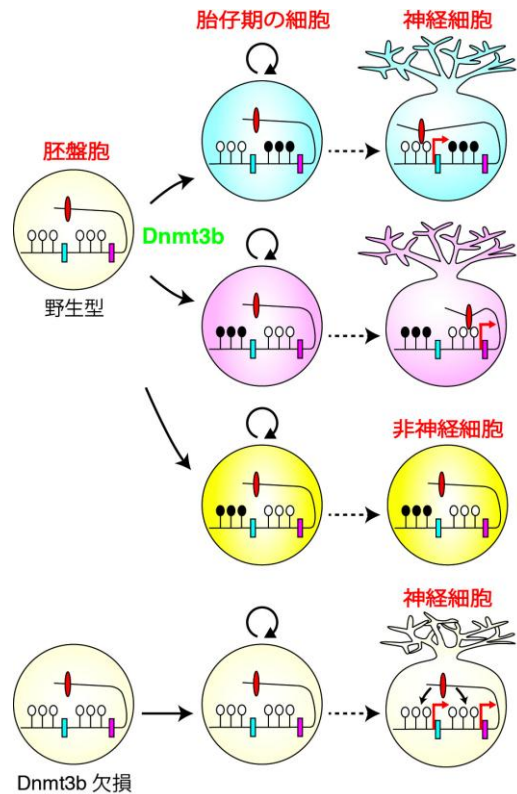


図 2 各 Pcdh の上流にプロモーター領域があり、胚発生の初期に Dnmt3b により差次的に DNA メチル化を受ける (黒色の丸)。神経細胞に分化した段階で、エンハンサー (赤色の楕円) がメチル化されていないプロモーターを活性化させ個々の神経細胞で異なる確率的な遺伝子発現となる。

## 原著論文

1. 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* 82: 94-108. (DOI:10.1016/j.neuron.2014.02.005)
2. Kaneko R, Abe M, Hirabayashi T, Uchimura A, Sakimura K, Yanagawa Y, Yagi T. (2014) Expansion of stochastic expression repertoire by tandem duplication in mouse Protocadherin- $\alpha$  cluster. *Scientific Rep* 4: 6263. (DOI:10.1038/srep06263)
3. Meguro R, Hishida R, Tsukano H, Yoshitake K, Imamura R, Tohmi M, Kitsukawa T, Hirabayashi T, Yagi T, Takebayashi H, Shibuki K. (2015) Impaired clustered protocadherin- $\alpha$  (cPcdh- $\alpha$ ) leads to aggregated retinogeniculate terminals and impaired visual acuity in mice. *J Neurochem* 133: 66-72. (DOI: 10.1111/jnc.13053)