

戦略的創造研究推進事業 C R E S T  
研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」  
研究課題「臨界期機構の脳内イメージングによる解析  
と統合的解明」

## 研究終了報告書

研究期間 平成16年10月～平成22年3月

研究代表者：ヘンシュ 貴雄  
((独)理化学研究所 脳科学総合研究センター  
チームリーダー)

## § 1 研究実施の概要

哺乳類の中枢神経系は出生時には未熟で、生後の発達初期の特定の時期「臨界期」に自己の経験を通じて急速に脳機能を発達させる。この臨界期には経験や環境からの刺激に応じて、神経回路は柔軟に形成、再構築され、成体になるとこの柔軟な神経の可塑性が少なくなっていく。我々は、これまでにマウス大脳の両眼視可塑性の発達には GABA 作動性の抑制性神経回路の発達が不可欠であることを見出してきた。また、臨界期可塑性においては形態的变化も不可欠であり、スパインや、その前駆体と考えられるフィロポディアといった神経細胞の樹状突起に注目した研究が近年増え始めている。我々はこの樹状突起特有に発現する膜蛋白質「テレンセファリン」(TLCN: intercellular adhesion molecule (ICAM)-5) 同定しており、このテレンセファリンは臨界期における神経細胞の樹状突起形態形成、シナプス形成、神経回路構築過程において何らかの重要な役割を果たしていることが示唆されている。そこで本研究では哺乳類の臨界期における可塑性の分子メカニズムを明らかにし、その可塑的变化の形態的イメージングすることを目的とし、以下の研究を行った。さらにこれらで得られた結果を異なる動物種、キンカチョウの発声行動における臨界期に当てはめることで普遍的メカニズムを明らかにすることを試みた。

- 1) アデノウイルスベクターを用いたマウス胎仔脳の局所的遺伝子導入技術を開発し大脳皮質における臨界期可塑性の形態的イメージングを行う：特定の細胞群のみを操作、標識できるアデノウイルス技術を開発し、可塑性に必要な抑制性介在細胞を同定し、その形態的变化を可視化する（ヘンシュグループ、橋本グループ）。
- 2) 樹状突起スパイン形成過程におけるテレンセファリンの役割の解明：マウスの大脳におけるテレンセファリン遺伝子の終脳特異的発現エンハンサー領域可をえること、またテレンセファリンの細胞外及び細胞内領域に結合するシグナル伝達分子の探索を行い、臨界期の形成に関わる分子群を同定する（吉原グループ）。
- 3) 発声行動学習における GABA 細胞と形態的可塑性の役割の解明：マウスの研究より明らかになった臨界期形成機構の普遍性を調べるため、キンカチョウの歌学習における臨界期での抑制性機構による制御、またそのメカニズムの解明を行う（ヘスラーグループ、ヘンシュグループ）。

### その結果

- 1) マグネットを付着したアデノウイルスを作成し、脳の外から磁石によって制御することで、特定の領域の神経細胞にのみウイルスを導入することに成功した（橋本グループ）。また、これまでの研究で臨界期の形成に関わる報告のある特定の抑制性細胞、Parvalbumin (PV) 陽性細胞に特異的なプロモーターをベクターに組み込んだウイルスを作成し、PV 細胞特異的に発現するウイルスを作成することに成功した。しかし、このウイルスベクターは活性が低く、in vivo での形態観察には至らなかった。しかし、一方で、視覚野における臨界期の可塑性には錐体細胞における形態的变化、スパインの剪定が起こることを明らかにした。このスパイン剪定にはタンパク質分解酵素、プラスミノーゲンが必要であること、また抑制性細胞への入力での可塑性も重要であることを明らかにした（ヘンシュグループ）。
- 2) テレンセファリンは樹状突起フィロポディアに高濃度存在し、成熟したスパインでは発現が減少していること、テレンセファリン過剰発現による樹状突起フィロポディア形成には、テレンセファリンの細胞外及び細胞内の両方の領域が必要であること、テレンセファリン遺伝子欠損マウスでは樹状突起フィロポディア数が野生型マウスに比べて有意に少なく、スパインへの移行が加速されていること、ERM ファミリーアクチン結合蛋白質群（Ezrin / Radixin / Moesin）がテレンセファリン細胞内領域の膜近傍アミノ酸配列に結合し、樹状突起フィロポディア形成を司ることを明らかにした。さらにテレンセファリンの上流遺伝子を解析することにより終脳特異的発現エンハンサーを同定し、これを用

いたトランスジェニックマウスを作成した。またその他、臨界期機構の研究に用いられるトランスジェニックマウス系統を作成した（吉原グループ）。

- 3) 異なるシステム、キンカチョウの歌学習においても GABA 抑制性機構の早期増強により歌学習が阻害されること、これらは抑制性機構の早期増強により、臨界期、なかでも感覚学習臨界期が早期に終了することが形態学的、電気生理学の実験から明らかになった。つまり異なるシステム間でも臨界期の形成機構に普遍的な部分があることが示唆された（ヘスラーグループ、ヘンシュグループ）。

哺乳類の臨界期ではテレンセファリン、プラスミノゲンといった幾つかの分子が密接に関連し、神経細胞の構造、神経回路を変化させることにより、可塑性が起きることが明らかになった。またこれらの分子をもとに、臨界期における形態の可塑的变化をイメージングするトランスジェニック動物系統を作成できており、近いうちに結果が出るのが期待される。また、異なる動物、病理モデルやシステム間でも臨界期の形成機構に普遍的なメカニズムがあることが示唆された。他の動物種でも遺伝子操作が行えるようになった時には、前述の分子の臨界期形成における役割の普遍性が明らかになることも期待される。

## § 2 研究計画に対する成果

### (1) 当初の研究構想

#### ①ヘンシュグループ：

大脳視覚野可塑性における GABA 抑制性細胞とスパインダイナミクスの役割の解明

アデノウィルスを用いて特定の抑制性細胞を操作、標識することにより、その抑制性神経回路の視覚野可塑性における役割、形態的变化を明らかにする。

- 細胞特異的な構造の変化の生体内イメージング
- 抑制性細胞に注目した臨界期可塑性のメカニズムの解明

#### ②橋本グループ

アデノウィルスベクターの特異的導入法の開発

マグネットを付着させたアデノウィルスを誕生日依存的に導入、抑制性細胞の種類特異的なベクターの開発により、領域、種類特異的なアデノウィルスベクター導入方を確立する

- 抑制性細胞特異的に遺伝子導入を行えるアデノウィルスベクターの作成
- マグネットを付着させたアデノウィルスベクターの作成

#### ③吉原グループ

嗅覚神経回路におけるテレンセファリンの役割の解明

Kaede 等、様々な蛍光タンパク質を発現するトランスジェニックマウスを作成し、スパインを生体内で可視化することによりテレンセファリンの役割を明らかにする。

- テレンセファリンのスパイン形成に関する役割を解明
- トランスジェニック動物の作成
- トランスジェニック動物を用いて、生体内でのスパイン形成をイメージング

#### ④ヘスラーグループ、ヘンシュグループ

キンカチョウの歌学習の臨界期における抑制性機構の役割の解明

キンカチョウの歌学習において「抑制性機構による臨界期形成の制御」というアイディアの動物種、システムを越えた普遍性を明らかにする。さらにアデノウィルスにより神経細胞を可視化することにより歌学習における形態的可塑性を生体内で可視化する。

- キンカチョウの歌学習における抑制性機構の役割の解明

- アデノウィルスによる遺伝子導入、細胞標識の確立、生体内イメージング

(2) 新たに追加・修正など変更した研究構想

①ヘンシュグループ

研究を行う過程で、注目していた特定の抑制性細胞、PV 細胞が自閉症に関わるという病理学的報告があり、神経疾患等への関わりについても研究を進めるようにした。

### § 3 研究実施体制

(○：研究代表者または主たる共同研究者)

(1) 研究参加者

①ヘンシュグループ

|   | 氏名                | 所属          | 役職        | 参加時期           |
|---|-------------------|-------------|-----------|----------------|
| ○ | ヘンシュ 貴雄           | 神経回路発達研究チーム | チームリーダー   | H16. 10～       |
|   | 岩井 陽一             | 同 上         | CREST 研究員 | H16. 10～       |
|   | Fagiolini Michela | 同 上         | 研究員       | H16. 10～H19. 3 |
|   | 杉山陽子 (矢崎)         | 同 上         | CREST 研究員 | H16. 10～       |
|   | 高木 佳子             | 同 上         | CREST 研究員 | H16. 10～       |

②橋本グループ

|   | 氏名    | 所属       | 役職       | 参加時期     |
|---|-------|----------|----------|----------|
| ○ | 橋本 光広 | 橋本研究ユニット | ユニットリーダー | H16. 10～ |

③吉原グループ

|   | 氏名      | 所属            | 役職         | 参加時期           |
|---|---------|---------------|------------|----------------|
| ○ | 吉原 良浩   | シナプス分子機構研究チーム | チームリーダー    | H16. 10～       |
|   | 宮坂 信彦   | 同 上           | 副チームリーダー   | H16. 10～       |
|   | 吉原 誠一   | 同 上           | 研究員        | H16. 10～H19. 3 |
|   | 松野 仁美   | 同 上           | リサーチアソシエイト | H16. 10～H18. 3 |
|   | 古谷 裕    | 同 上           | 研究員        | H18. 4～        |
|   | 三津井 五智子 | 同 上           | テクニカルスタッフ  | H19. 4～        |

④ヘスラーグループ

|   | 氏名             | 所属          | 役職        | 参加時期           |
|---|----------------|-------------|-----------|----------------|
| ○ | Neal A Hessler | 発声行動機構研究チーム | チームリーダー   | H16. 10～       |
|   | 渡辺 愛子          | 同 上         | 研究員       | H16. 10～H18. 3 |
|   | Jason Kushner  | 同 上         | テクニカルスタッフ | H18. 05～       |

(2) 研究項目

①ヘンシュグループ

大脳皮質における臨界期可塑性の形態的イメージング

②橋本グループ

アデノウイルスベクターを用いたマウス胎仔脳の局所的遺伝子導入技術の開発

③吉原グループ

樹状突起スパイン形成過程におけるテレンセファリンの役割

④ヘスラーグループ、ヘンシュグループ

発声行動学習における GABA 細胞と形態的可塑性の役割

## § 4 研究実施内容及び成果

### 4.1 大脳視覚皮質における臨界期可塑性の形態的イメージング（ヘンシュグループ）

#### (1) 研究実施内容及び成果

生後発達の特定の時期「臨界期」の脳は周りの環境からの刺激を受け柔軟にその形態、機能を可塑的に変化させることにより、経験・環境に適応した神経回路を形成していく。マウス、大脳視覚野の神経回路は臨界期の視覚経験に基づいた神経の可塑性があることが電気生理学的に明らかになっている。また、これまでの研究からこの可塑性が起きるためには大脳視覚野に存在する特定の抑制性細胞、パルブアルブミン陽性細胞（Parvalbumin;PV）が成熟する必要があることも示唆されてきた。しかし従来の細胞外記録による電気生理学的手法では大きさも小さく、数も少ない抑制性細胞自身の可塑性を見ることは難しいため、この抑制性細胞自身の臨界期可塑性は形態学的にも、生理学的にも明らかになっていなかった。そこで本研究では領域特異的、細胞の種類特異的に発現するウィルスベクターを開発し、PV 陽性細胞のみを標識、操作することにより、抑制性細胞自身の可塑性を、形態学的、生理学的に明らかにすることを目的とし研究を行った。

#### 1) 錐体細胞における形態学的可塑性（Mataga N. et al, *Neuron*, 2004）

まず、神経回路内で抑制性細胞から入力を受ける錐体細胞においても形態的可塑性を調べた。錐体細胞を蛍光色素で標識し、そのスパインの数を調べたところ、片眼を閉じて4日後のマウスでは、スパインの数が減少していた（図 1）。これをスパインの剪定と名づけた。

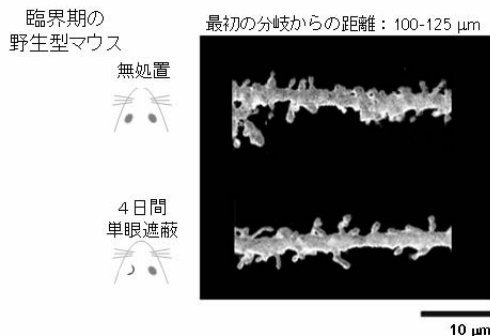


図1 単眼遮蔽後のスパインの密度。  
実際には、最初の分岐から 25 ミクロンずつに区分してスパイン数をカウントした。4日間の単眼遮蔽でスパインが剪定されている。

このスパインの剪定はセリンプロテアーゼ（プロテアーゼ：タンパク質分解酵素）の一種である組織型プラスミノゲンアクチベーター(tPA)を欠損したマウス（図 2）、抑制性 GABA の低下した GAD65 ノックアウトマウス（図 3）では見られなかった。これらのことから、錐体細胞においては臨界期では抑制性機構が引き金となり tPA の作用により形態的な可塑性が起きることが示された。

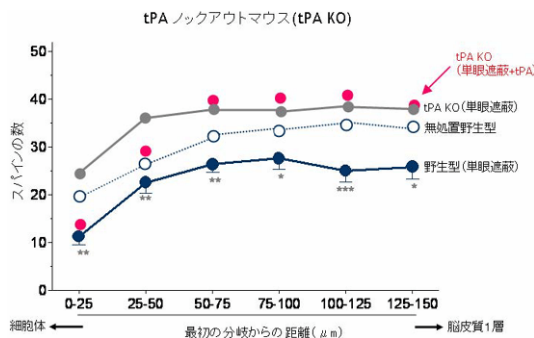


図2 tPA ノックアウトマウスにおけるスパインの変化。

すべてのグループから10個以上の細胞の総スパイン数をカウントした。野生型では、単眼遮蔽でスパインの剪定が行われた（青色）。一方、tPA ノックアウトマウスでは、遮蔽をしてもその数は減少しない（灰色）。人工的に tPA を脳質内に投与すると、細胞体の近傍から剪定が始まる（赤色）。

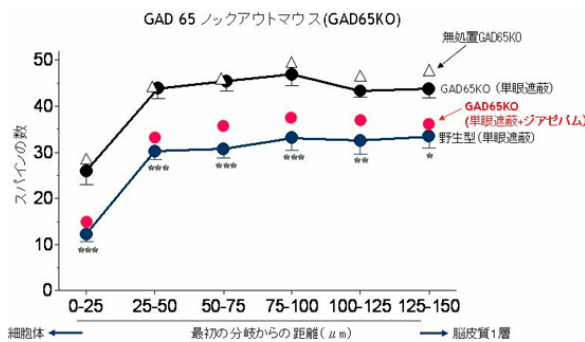


図3 GAD 65 ノックアウトマウスにおけるスパインの変化。単眼遮蔽をしてもスパインの剪定は起こらない（黒色と青色を比較）。一方、シアゼパムで神経伝達を高めながら、目を閉じると完全に野生型と同じ現象が見られる。

## 2) TLCN ノックアウトマウスにおける可塑性の促進(Fagiolini ら; Rinaldi ら投稿準備中)

以上の結果から、臨界期では抑制性機構が引き金となり錐体細胞の形態的可塑性が起きることが示された。そこで、臨界期におけるスパイン成熟・シナプス形成・神経回路構築過程にて、テレンセファリン分子が何らかの重要な役割を果たしているのではないかと考えた。テレンセファリン遺伝子欠損マウスでは樹状突起フィロポディアから成熟スパインへの移行が加速されている（吉原グループ参照）。これに伴い、通常の臨界期（P25-31）より若いマウス（P16）での可塑性が見られた（図4）。また、野生型マウスに比べ、通常4日間で開眼に応答するようになる視覚野ニューロンが、TLCN ノックアウトマウスでは、わずか2日間で、強力な眼優位可塑性を示した。同様に早まった可塑性は、聴覚大脳皮質でも確認された。

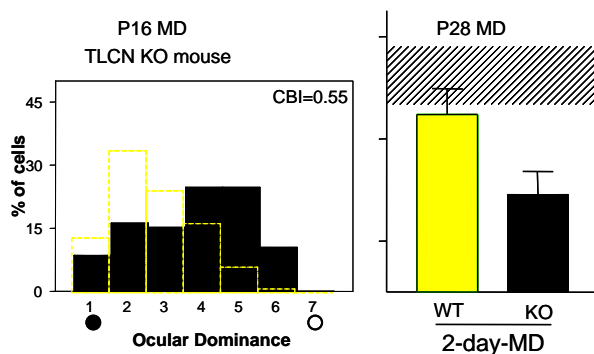
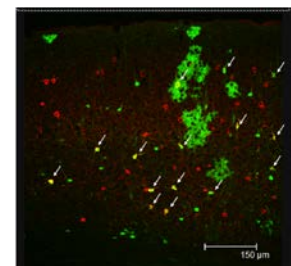


図4 TLCN ノックアウト (KO) マウスにおける可塑性促進 スパイン成熟の加速に伴い、野生型マウス（黄）に比べ、臨界期前（左）に片眼を閉じた TLCN KO (黒)や臨界期内（右）にわずか2日間単眼遮断 (MD) した TLCN KO では顕著な可塑性がみられる。

## 3) ウィルスベクターによる PV 陽性細胞の標識

PV 細胞は電気生理学的に Fast Spiking の特徴を持つ。この Fast Spiking に必要な電位依存型 K チャンネル Kv3.1 のプロモーターをベクターに組み込むことにより PV 細胞特異的な細胞の可視化を試みた。Kv3.1 プロモーター支配下に EYFP を発現するアデノウィルスベクターの作製し胎仔の脳室内に感染させた。さらにマグネットを付着することにより抑制性介在神経が発生してくる ganglionic eminence にウィルスを誘引しながら感染させることで、PV 細胞特異的にウィルスを感染させることを試みた。しかし、Kv3.1 プロモーターは in vivo での活性が低く in vivo での観察が難しいこと、PV 細胞以外の細胞にも少数ではあるが感染してしまうことから、PV 細胞特異的な標識は出来なかった（図5）。

図5 ウィルス感染させたマウス脳の GFP (緑色) と PV (赤色) の二重染色像 Kv3.1 プロモーターの支配下で EYFP を発現するアデノウィルスを胎仔の脳室内に注入し、後日、脳切片を作成し、GFP (緑色)、PV (赤色) の免疫染色を行った。感染した多くの細胞は PV 細胞であるが、それ以外の細胞でも感染が見られる。



#### 4) PV 細胞の可塑性の電気生理学的解析 (Yazaki-Sugiyama et al, *Nature*, 2009)

ウィルスベクターによる PV 細胞の形態学的解析を試みる一方で、電気生理学的手法により、PV 細胞の可塑性を詳細に解析した。本研究においては、細胞の同定が難しい細胞外記録に代わり、詳細な発火パターンや、形態から同定が可能な細胞内記録法を生体内で確立し (図 6)、PV 細胞自身の可塑性を見ることに成功した。すると驚くべきことに、

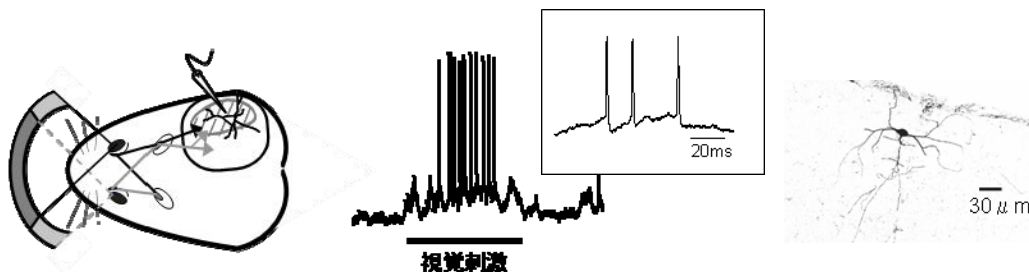


図 6 生体内細胞内記録による PV 細胞からの記録

マウス大脳第一次視覚野の抑制性細胞から細胞内記録を行い (左)、その視覚反応をみた (中)。特徴的な早い発火パターンから、Fast Spiking の特徴を持つ、PV 細胞であることが分かる (中、挿入図)。さらに記録後に細胞内にニューロビオチンを注入することにより、記録した細胞の形態学的観察をすることが出来る。

PV 細胞では従来の錐体細胞における可塑性とは大きく異なるダイナミックな可塑性を示すことが明らかになった (図 7)。

さらにこの PV 細胞における特異的な可塑性が神経回路内で情報を受け取る、錐体細胞でどの様に反映されているのかを調べるため錐体細胞内での抑制性入力の一側遮断に伴う変化を調べたところ、抑制性入力の優位性における役割も変化していた (図 8)。また、これらの変化はコンピュータシミュレーションにより、PV 細胞への入力に変化したことによることが示唆された。

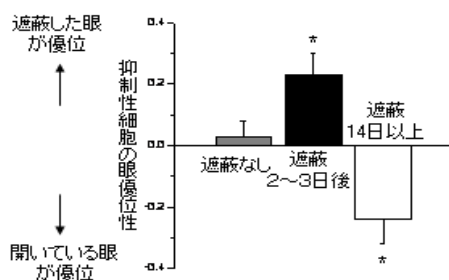


図 7 PV 細胞の眼優位可塑性

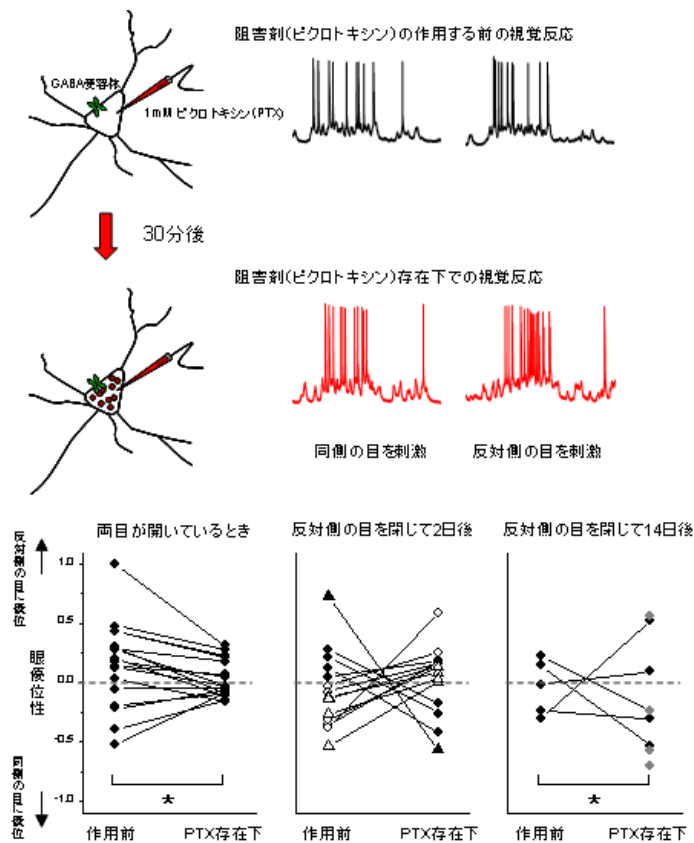
PV 細胞は通常、どちらの眼にもその優位的な反応を示さないが、片眼を閉じると 2~3 日後には閉じた眼に優位に、14 日後には開いている眼に優位になるように優位性が移行している

図 8 錐体細胞に対する抑制性入力の変化 (次頁)

上側: 抑制性入力を受け取る GABA 受容体の阻害剤であるピクロトキシン (PTX) を入れた電極で、錐体細胞の細胞内記録を長時間行い、電極の先端から少しずつ阻害剤を細胞内に充満させる。錐体細胞内に電極が刺入直後と 30 分以上経った後、つまり PTX の作用前と作用後の視覚反応の眼優位性を比較すると、抑制性入力の眼優位性における役割を知ることができる。

下側: 両目が開いているときは、PTX の作用により抑制性入力が増強されて優位性が弱くなるが (左)、片目 (記録している視覚野と反対側の目) を閉じて 2 日後には PTX の作用によって優位性の高い目が逆転し (真ん中)、さらに 14 日後には、作用前に視覚反応が無かった細胞が PTX の作用により反応するようになる (右、灰色の丸)。このように、錐体細胞の眼優位性における抑制性入力の役割が、片目を閉じることによって変化していることが分かった。





##### 5) PV 細胞の病理学的機能の解明 (岩井ら、投稿準備中)

理化学研究所の古市研究室は近年、自閉症患者において脳由来神経栄養因子の分泌を調節する遺伝子 (CAPS2) に変異がみられることを見つけ、この遺伝子を欠損した (CAPS2 KO) マウスは社会行動に異常を示すことを明らかにした (Sadakata et al., 2007)。この CAPS2 KO マウスでは PV 陽性細胞の成熟が遅れることが分かっている。我々は臨界期可塑性の異常が自閉症の原因かもしれないと考え、CAPS2 KO マウスの視覚野臨界期を調べたところ CAPS2KO でも野生型 (WT) と同程度の強さの視覚応答が見られたが、臨界期の眼優位可塑性は WT に比べて弱いことが分かった (図 9)。さらに CAPS2 KO

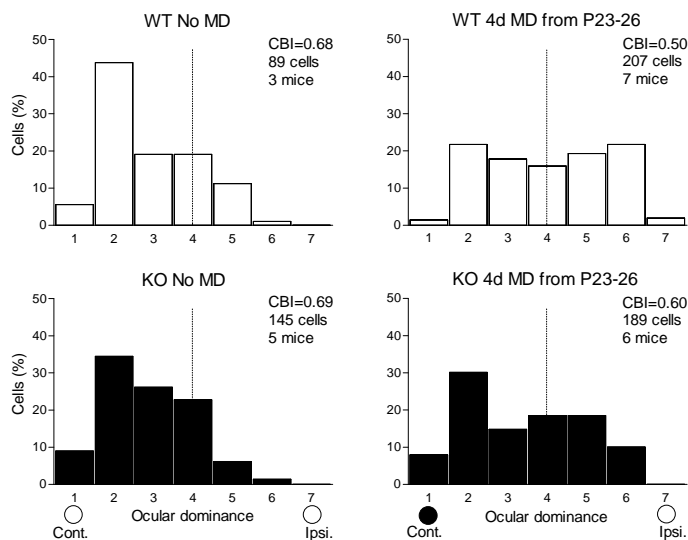


図 9 CAPS2 KO マウスの眼優位可塑性。ナイーブな CAPS2 KO マウスの視覚野ニューロン (左下) は WT (左上) と同様の眼優位性を示す。正常臨界期に 4 日間片眼を閉じると、KO マウスの視覚野ニューロンは開眼に応答するようになるが (右下)、WT (右上) に比べて眼優位可塑性は弱い。CBI は視覚野ニューロンが対側の眼 (cont.) にどの程度強く応答するかを表す指数で、0 から 1 の値をとる。

マウスでは PV 陽性細胞の成熟が遅れることから、通常の臨界期より遅い日齢マウスでの可塑性を調べた (図 10)。

野生型マウスでは臨界期 (P25-31) を過ぎると可塑性が弱まるが、CAPS2KO では臨界期の 15 日後 (P40-47) に強い可塑性が見られた。この可塑性はさらに 20 日経つと (>P60) 見られなくなった。また通常、視覚刺激に対する延長応答する細胞の割合は抑制性伝達の成熟に伴い、眼優位可塑性の臨界期の頃には減少する。しかし CAPS2KO では通常の臨界期 (P25-31) に延長応答する神経細胞の割合が多く、以降、徐々に減少した。つまり CAPS2KO マウスでは抑制性伝達の成熟が遅れていることが示唆された。そこで眼優位可塑性における臨界期のタイミングの異常は抑制性伝達の成熟の遅れに因るものかを調べるため、通常の臨界期 (P25-31) の CAPS2KO にベンゾジアゼピンを投与し、GABA 受容体シグナルを

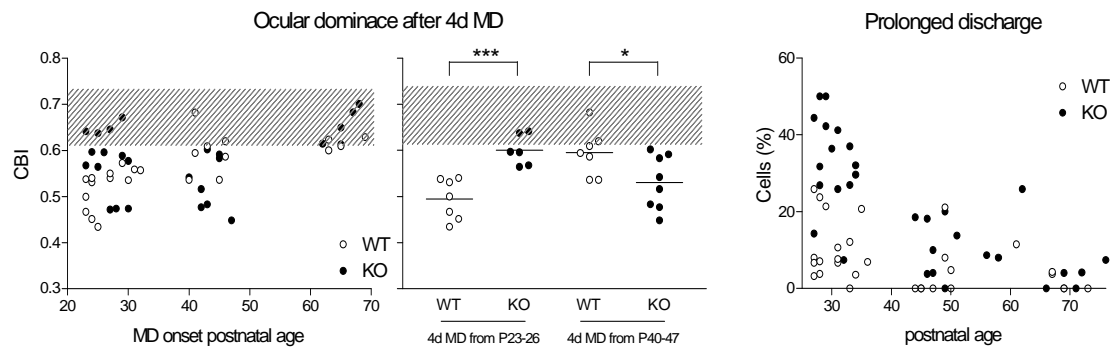


図 10 通常の臨界期以降における CAPS2 KO マウスの眼優位可塑性

左：様々な日齢における WT, CAPS2KO マウスの 4 日間の片眼遮蔽後の CBI。○ (WT)、● (CAPS2 KO)。斜線の領域は WT の通常の CBI の範囲を示す。中：臨界期 (P23-26) と臨界期後 15 日 (P40-47)、それぞれに時期における WT, CAPS2KO マウスの 4 日間の片眼遮蔽後の CBI の比較。右：様々な日齢における延長反応 (Prolonged discharge) を示す神経細胞の割合。○ (WT)、● (CAPS2 KO)。

特異的に強めたところ眼優位可塑性が回復した (図 11)。以上のことから、自閉症のモデルマウスである CAPS2 KO マウスでは PV の成熟の遅れにより GABAA 受容体を介した抑制性伝達の低下が起き、これにより眼優位可塑性の臨界期のタイミングに異常が起きている、と考えられる。PV 細胞の成熟の遅れが、直接自閉症の原因となっているのか、PV 細胞の成熟が眼優位可塑性の異常を起こし、それが自閉症を引き起こすのか、詳細な解析が必要である。

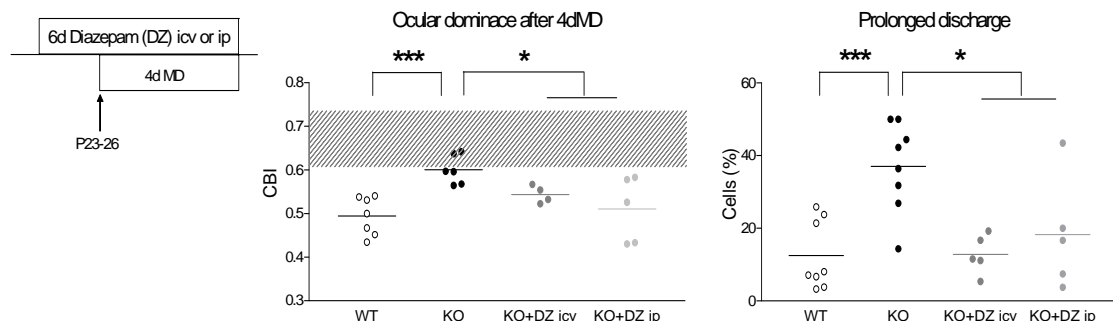


図 11 CAPS2 KO マウスの機能回復。臨界期 (P23-28) にベンゾジアゼピン (DZ) を脳室内 (icv) あるいは腹腔 (ip) に 6 日間投与すると (左)、CAPS2 KO マウスの眼優位可塑性 (中) と延長反応 (右) が回復する。

## 4.2 アデノウイルスベクターを用いた、マウス胎仔脳の局所的遺伝子導入技術の開発（橋本グループ）

### (1) 研究実施内容及び成果

発達期の脳内では、抑制性神経回路網が興奮性神経のシナプス可塑性に重要な役割を果していることが知られている。特に、Parvalbumin(PV)陽性の抑制性介在神経（GABA 作動性）は、多種存在する抑制性介在神経全体の 50%以上を占め、眼優位性の獲得過程における臨界期出現・維持・終了に大きく関与していることが示されてきた。しかし、この PV 陽性介在神経が、どのようにして脳の可塑性を制御しているかは、多くの技術的困難に阻まれ、詳細は明らかにされていない。この抑制性局所神経回路網をより詳細に解析することは、臨界期形成の分子メカニズムの全容を明らかにしていく上で非常に重要である。そこで、本研究のねらいは、脳の可塑性における抑制性神経回路網の機能を詳細に解析するため、新たな研究技術の創出を試みる。この技術を他の研究グループへ提供することにより、抑制性局所神経回路網が制御する脳の可塑性研究を加速化することを目指す。

従来の研究技術では、PV 陽性細胞が関与する局所神経回路網の機能解析は困難であった。そこで、本研究では、アデノウイルスベクターを用いた、局所遺伝子導入法を確立し、PV 陽性細胞への機能遺伝子の導入技術の確立を試みた。また、歌学習において臨界期の存在が報告されているキンカチョウの神経核へ、アデノウイルスベクターを用いて遺伝子導入が可能かを検討し、キンカチョウの歌学習における臨界期の分子生物学的研究におけるアデノウイルスベクターも用いた遺伝子導入の有用性を検討した。

アデノウイルスベクターは、他のウイルスベクターに無い特殊な性質を有している。それは、「アデノウイルスベクターは神経細胞の誕生日依存的に神経細胞へ遺伝子を導入することができる」ということである。例えば、マウス胎生 12.5 日目にアデノウイルスベクターを注入すると、大脳皮質の第 5 層の神経細胞に、胎生 14.5 日に行うと大脳皮質の第 2/3 層の神経細胞へ特異的に遺伝子を導入することが出来る。この性質は、神経細胞の発生・分化ならびに神経細胞の機能を解析する上で、大変有用である。なぜなら、アデノウイルスベクターによって、同じ誕生日を有した神経細胞群に外来性遺伝子を導入し、それらの機能を分子生物学的に改変し、神経細胞の発生・分化・機能を詳細に解析する事が出来るからである。同じ誕生日を有した神経細胞群を分子生物学的に操作することは、アデノウイルスベクターを用いた遺伝子導入のみで可能である。

アデノウイルスベクターを胎生期のマウス脳室内に注入すると、アデノウイルスベクターは、脳室面に存在する神経幹細胞へ様に感染し、遺伝子を導入する。したがって、アデノウイルスベクターには指向性がなく、アデノウイルスベクターを用いて局所的に遺伝子を導入することは困難であった。もし仮に、アデノウイルスベクターに特殊な性質を付与し、局所的に遺伝子を導入することが可能となれば、神経科学の研究を更に推進することになると予想される。そこで、アデノウイルスベクターへ特殊な性質を化学的に付与し、

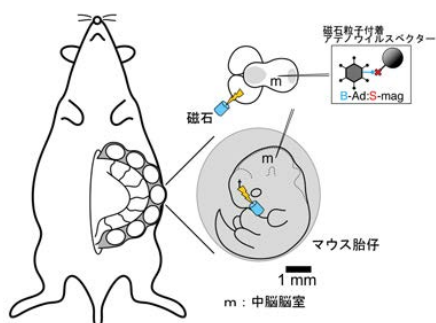


図 1. 磁石粒子の付着したアデノウイルスベクターを用いた、マウス脳への局所的遺伝子導入法  
磁石粒子を付着させたアデノウイルスベクターをマウス胎仔の中脳脳室へ注入後、GE の方向へ強力な磁石を設置する。強力な磁石でウイルス粒子を誘引後、胎仔を腹腔内へ戻す。ウイルスを注入したマウス胎仔は、正常に発生する。胎生 18.5 日目に帝王切開を行い、仮親へ預ける。

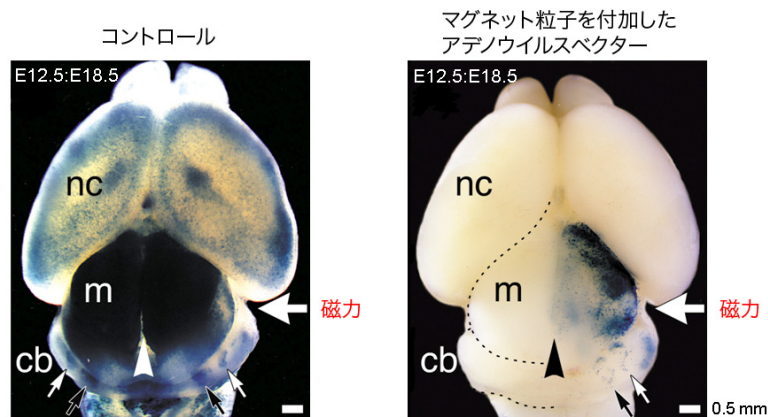


図2. マグネット粒子を付加したアデノウイルスベクターによる、局所遺伝子導入の実例  
胎生 12.5 日にマウス胎仔の中脳脳室へ LacZ を発現するアデノウイルスベクター（コントロール）と、マグネット粒子を付加した LacZ を発現するアデノウイルスベクター（マグネット粒子を付加したアデノウイルスベクター）を注入した。注入後、胎仔の頭部外側から強力な磁石によって、図中矢印の方向から誘引を行った。実験操作を行ったマウス胎仔は、胎生 18 日目に固定後、脳を取り出し、LacZ 染色を行っている。マグネット粒子を付加したアデノウイルスベクターは、磁石によって誘引され、局所に遺伝子を導入している。

局所に遺伝子を導入できる技術の開発を試みた。マグネット粒子を化学的に付加したアデノウイルスベクターの作製を行った（図1）。これは、脳室内に注入したアデノウイルスベクターを脳の外から磁石で制御し、アデノウイルスベクターを局所に感染させようという試みである。結果、マグネット粒子を付加したアデノウイルスベクターを用いれば、磁石によって脳の局所へ遺伝子を導入できることが判明した（図2）。

この技術を用い、抑制性介在神経への遺伝子導入を試みた。側脳室の脳室体から発生してくる大脳皮質の錐体細胞とは異なり、抑制性介在神経は **ganglionic eminence**（GE）から発生してくることが知られている。アデノウイルスベクターを用いて抑制性介在神経へ遺伝子を導入するためには、アデノウイルスベクターを GE に感染させる必要がある。そこで、マグネット粒子を付着させたアデノウイルスベクターを脳室内に注入し、脳の外から強力な磁石を用いて、アデノウイルスベクターを GE に誘引し、感染させようとした。その結果、アデノウイルスベクターを局所的に感染させ、GE から発生してくる介在神経へ遺伝子を導入することができた（図3）。

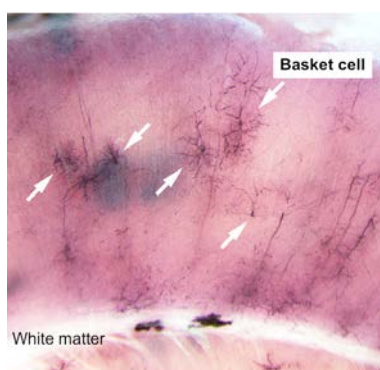


図3. アデノウイルスベクターによる、介在神経細胞への遺伝子導入

マグネット粒子を付加したアデノウイルスベクターによって、GE に局所的に遺伝子を導入した。アデノウイルスベクターによって、介在神経細胞(basket cell)へアルカリホスファターゼを発現させたため、紫色に染色されている。

PV 陽性細胞には電位依存型カリウムチャネルの一つである **Kv3.1** が局在している。**Kv3.1** のプロモーターをベクターに組み込むことにより PV 陽性細胞特異的な細胞の可視化・遺伝子発現が可能になると考えられる。まず、**Kv3.1** の 5' 上流領域のプロモーターと



しての機能を解析するため、Kv3.1 の 5' 上流領域 1kbp と 6kbp に EYFP を結合したプラスミドを構築し、ジーンガンを用いてマウス大脳皮質スライス培養切片にそのプラスミドを導入した。その結果、4 日後には 1k、6k とともに PV 陽性細胞が可視化されることが確認された (図 4)。

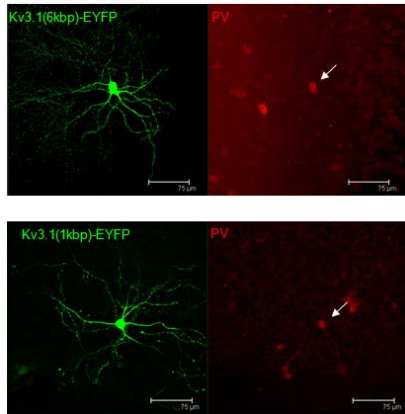


図 4. 電位依存性カリウムチャンネル Kv3.1 の 5' 上流領域のプロモーター活性の解析

Kv3.1 の 5' 上流領域 1kbp と 6kbp に EYFP を結合したプラスミドを構築し、ジーンガンを用いてマウス大脳皮質スライス培養切片にそのプラスミドを導入した。遺伝子を導入してから 4 日後に、スライス培養切片を固定し、抗 PV 抗体にて染色した。EYFP 陽性細胞が、PV 陽性であることが確認できる。

今回の解析で Kv3.1 の 5' 上流領域 1kbp を用いても、細胞特異的プロモーター活性が維持されていることが明らかとなった。次に、Kv3.1 プロモーター支配下に EYFP を発現するアデノウイルスベクターの作製を行った (図 5)。作製したアデノウイルスベクターを成熟マウスの大脳皮質に注入したところ、このアデノウイルスベクターは Kv3.1 プロモーターの特異性を維持しており、ウイルス感染細胞に PV 陽性細胞が混在していることを確認した。Kv3.1 プロモーターを有したアデノウイルスベクターを用いれば、PV 陽性細胞の機能を改変し発達期の神経回路網における PV 陽性細胞の機能をより詳細に解析できると期待できる。Kv3.1 プロモーター有するアデノウイルスベクターを、マウス胎仔に注入し、介在神経細胞への遺伝子導入を試みたが、Kv3.1 プロモーターの活性が低く、遺伝子が導入された介在神経細胞の形態を in vivo において観察するまでに至らなかった。

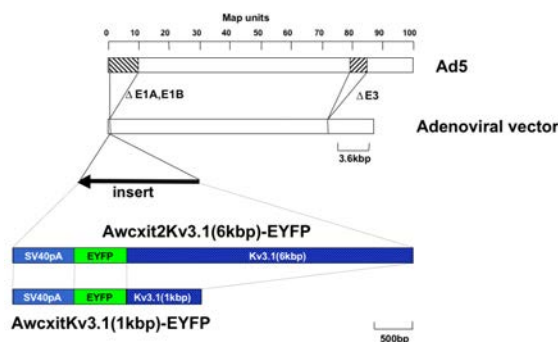


図 5. Kv3.1 プロモーター支配下に EYFP を発現するアデノウイルスベクターの構造

今日の神経科学の大きな発展をもたらしたのは、遺伝子改変動物 (トランスジェニックマウス、ノックアウトマウス) によるところが大きい。遺伝子改変動物は、神経機能を解析する上で必須であるが、キンカチョウの遺伝子改変動物を作製することは不可能である。そこで、アデノウイルスベクターを用い、キンカチョウの神経核へ遺伝子の導入を試みたところ、アデノウイルスベクターによって、キンカチョウの神経細胞へ遺伝子導入が可能であることが判明した (図 6)。

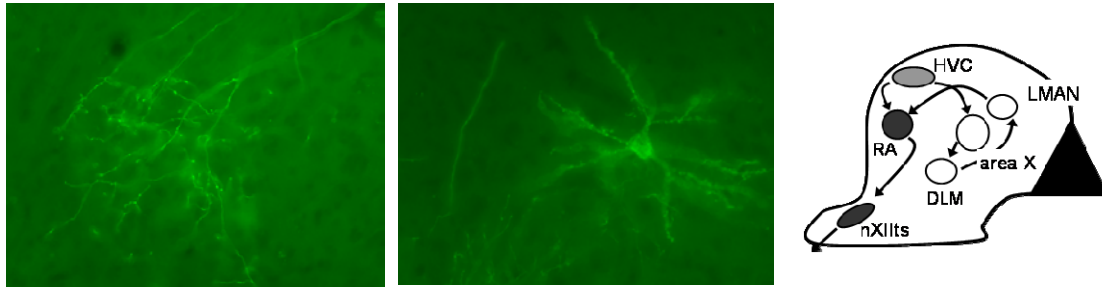


図6．アデノウイルスベクターを用いたキンカチョウの神経核への遺伝子導入  
アデノウイルスベクターを用いて、キンカチョウのMAN神経核に存在する神経細胞へEYFPを導入した。図はEYFPが導入されたMAN神経核神経細胞（右図）とMAN神経核神経細胞のArea X内における神経終末を示している（左図）。

神経細胞の機能を計測するために、カルシウムセンサーである yellow cameleon (YC) を発現するアデノウイルスベクターを作製した(図7)。アデノウイルスベクターを用いて、YC を大脳皮質の錐体細胞、小脳のプルキンエ細胞へ導入し、急性スライス上でカルシウム動態の計測による神経細胞の活動測定を試みた。その結果、YCを用いることによって、神経細胞の活動を有意に計測できることが判明した。このウイルスを用いて、in vivo における神経活動の計測を試みているが、シグナルが弱く、計測には至っていない。

神経細胞の機能を改変する目的で、光刺激によって神経細胞の活性化するチャンネルロドプシン2を発現するアデノウイルスベクターを作製した。また、光刺激によって神経細胞の活性を抑制する改良版ハロロドプシンを発現するアデノウイルスベクターを作製した(図8)。これらのアデノウイルスベクターを用い、生体内における神経細胞の機能を詳細に解析することが可能となる。

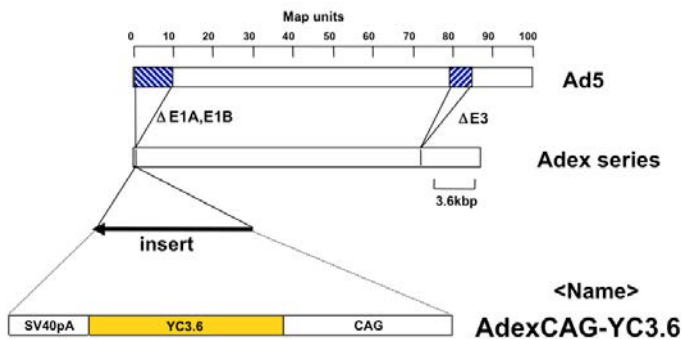


図7．Yellow cameleon (YC3.6)を発現するアデノウイルスベクターの構造

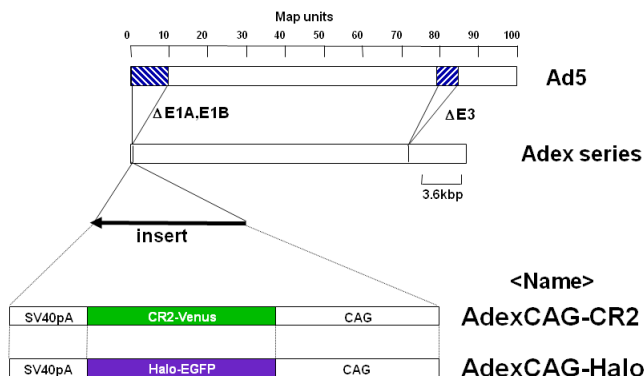


図8．チャンネルロドプシン2 (CR2)ならびに改良型ハロロドプシンを発現するアデノウイルスベクターの構造

#### 4.3 樹状突起スパイン形成過程におけるテレンセファリンの役割 (吉原グループ)

##### (1) 研究実施内容及び成果

###### ① 研究のねらい

樹状突起フィロポディアは臨界期の神経細胞に多く見られるダイナミックな構造であり、スパインの前駆体と考えられている。しかしながらその形成・維持機構、スパインへの移行過程さらにはシナプス可塑性における役割についてはほとんどわかっていない。私たちのグループは以前に、高次脳機能を司る終脳セグメントの神経細胞にのみ発現するユニークな膜蛋白質『テレンセファリン』(TLCN: intercellular adhesion molecule (ICAM)-5)を発見し、その構造・発現・機能解析についてこれまでに次のような知見を得ている。

- (1) テレンセファリンは免疫グロブリンスーパーファミリーに属する細胞認識・接着分子である (Yoshihara et al., **Neuron** 1994)。
- (2) テレンセファリンは哺乳類の終脳のみ存在する (Mori et al., **PNAS** 1987)。
- (3) 終脳内でテレンセファリンはスパインを有する神経細胞に存在する (Oka et al., **Neuroscience** 1990)。
- (4) 神経細胞内でテレンセファリンは樹状突起選択的な局在を示す (Mitsui et al., **J. Neurosci.** 2005)。
- (5) 終脳内各領域でテレンセファリンは、生後に発現し始め、臨界期にピークに達し、成体でも高レベルの発現を維持している (Yoshihara et al., **Neuron** 1994)。
- (6) テレンセファリンは海馬 CA1 領域における長期増強 (LTP) に関与する (Sakurai et al., **NeuroReport** 1998)。

以上の結果を基にして私たちは、テレンセファリンが臨界期における神経細胞の樹状突起形態形成、シナプス形成、神経回路構築過程において何らかの重要な役割を果たしているのではないかと考え、本研究の実施に至った。また、テレンセファリン遺伝子の終脳特異的発現エンハンサー領域が得られれば、臨界期機構を司る多くの遺伝子群の機能解析に有用な発生工学的ツールを得られると考え、その解析を行った。さらにテレンセファリンの細胞外及び細胞内領域に結合するシグナル伝達分子の探索を行い、臨界期のやわらかな脳で重要な機能を果たすと考えられる分子群を同定した。

また、臨界期機構の脳内イメージングのために、蛍光蛋白質 Kaede、synaptopHluorin、gapVenus などを特定のタイプのニューロンで発現するトランスジェニックマウスを作成し、スパイン及び神経回路可塑的変化のダイナミクスを二光子レーザー顕微鏡により *in vivo* 可視化する技術の開発を目指した。

###### ② 研究実施方法

###### (A) 樹状突起フィロポディア形成におけるテレンセファリンの役割

野生型マウス及びテレンセファリン遺伝子欠損マウスを用いて解析を行う。おもにマウス海馬初代培養細胞において、樹状突起フィロポディア及びスパインの形態がテレンセファリン過剰発現あるいは欠損によってどのように変化するかを観察する。またテレンセファリン細胞内領域結合分子の同定は酵母 Two-Hybrid 法により、その結合の詳細は表面プラズモン共鳴法により行う。

###### (B) テレンセファリン遺伝子の終脳特異的発現エンハンサーの同定

テレンセファリン遺伝子の終脳特異的エンハンサー領域同定のため、様々な長さの上流配列に hrGFP cDNA を融合させたトランスジーンを作成し、各トランスジーンについてトランスジェニックマウス系統を樹立する。

###### (C) 蛍光蛋白質 Kaede、synaptopHluorin、gapVenus 発現トランスジェニックマウスの作製

Thy1、テレンセファリンあるいは Tbx21 プロモーターの支配下に Kaede、synaptopHluorin、gapVenus などの蛍光蛋白質を発現するトランスジェニックマウス系統を樹立する。

### ③ 研究成果

#### (A) 樹状突起フィロポディア形成におけるテレンセファリンの役割

本研究により以下の結果を得た。

\*発達期の海馬神経細胞においてテレンセファリンは樹状突起フィロポディアに高濃度存在し、成熟したスパインでは発現が減少している。

\*海馬初代培養神経細胞にテレンセファリンを過剰発現させると、樹状突起フィロポディア数の劇的な増加が見られる (図1)。

\*テレンセファリン過剰発現による樹状突起フィロポディア形成には、テレンセファリンの細胞外及び細胞内の両方の領域が必要である。

\*テレンセファリン遺伝子欠損マウスでは樹状突起フィロポディア数が野生型マウスに比べて有意に少なく、スパインへの移行が加速されている (図2)。

\*成体のテレンセファリン遺伝子欠損マウスの海馬神経細胞では、野生型に比べて大きなスパインが多数存在し、より安定なシナプス構造を形成している。

\*ERM ファミリーアクチン結合蛋白質群 (Ezrin / Radixin / Moesin) がテレンセファリン細胞内領域の膜近傍アミノ酸配列に結合し、樹状突起フィロポディア形成を司る。

\*これまで機能不明であった細胞外マトリックス分子がテレンセファリンのリガンド分子として作用することを発見した (投稿準備中)。

以上の結果から、テレンセファリンと ERM ファミリー蛋白質の相互作用が樹状突起フィロポディア形成・維持に重要な役割を果たすことが証明され、臨界期におけるスパイン成熟・シナプス形成・神経回路構築過程において機能していると推測される。これらの知見は以下の2報の論文と1報の総説に発表した。

Matsuno et al. (2006) Telencephalin slows spine maturation. **J. Neurosci.** 26: 1776-1786.

Furutani et al. (2007) Interaction between telencephalin and ERM family proteins mediates dendritic filopodia formation. **J. Neurosci.** 27: 8866-8876.

Yoshihara et al. (2009) Dendritic spine formation and stabilization. **Curr. Opin. Neurobiol.** 19: 146-153.

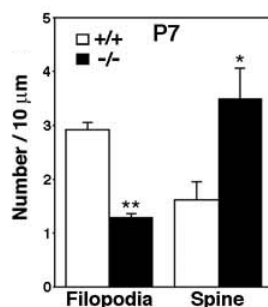


図2 生後7日の野生型マウス (+/+), TLCN 遺伝子欠損マウス (-/-) の海馬神経細胞におけるフィロポディア数とスパイン数

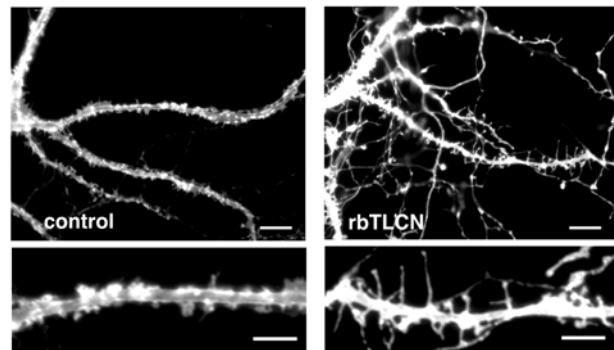


図1 TLCN 過剰発現海馬神経細胞(右)における樹状突起フィロポディア数の増加。左:コントロール

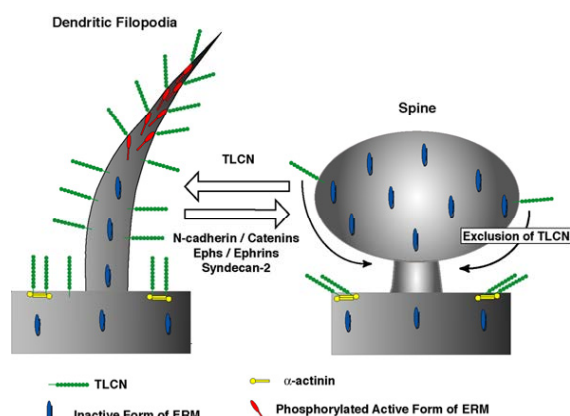


図3 樹状突起フィロポディアにおけるTLCNとERMファミリー蛋白質の役割



(B) テレンセファリン遺伝子の終脳特異的発現エンハンサーの同定

トランスジェニックマウスを用いたエンハンサー解析により、テレンセファリン遺伝子上流 0.2-1.1 kb に終脳特異的転写調節エンハンサーが存在することを発見した (図 4)。また、このエンハンサーを用いて終脳内に様々なパターンで Cre 組み換え酵素、シナプス前活動可視化蛍光蛋白質 synaptotagmin を発現するトランスジェニックマウスを作製した。

Mitsui et al. (2007) A transcriptional enhancer that directs telencephalon-specific transgene expression in mouse brain. **Cereb. Cortex** 17: 522-530.

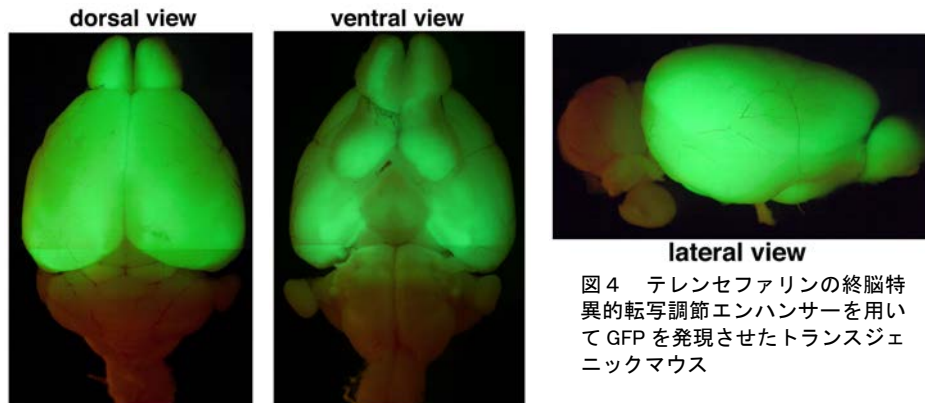


図 4 テレンセファリンの終脳特異的転写調節エンハンサーを用いて GFP を発現させたトランスジェニックマウス

(C) 蛍光蛋白質 Kaede、synaptotagmin、gapVenus 発現トランスジェニックマウスの作製

臨界期機構のイメージング研究に有効利用される以下のようなトランスジェニックマウス系統を作製した (投稿準備中)。

- \* Thy1 promoter – Kaede (多くの神経細胞が photoconvertible 蛍光蛋白質 Kaede を発現)
- \* Telencephalin promoter – synaptotagmin (終脳神経細胞がシナプス前活動可視化蛍光蛋白質 synaptotagmin を発現)
- \* Tbx21 promoter – synaptotagmin (二次嗅覚ニューロンがシナプス前活動可視化蛍光蛋白質 synaptotagmin を発現)
- \* Tbx21 promoter – gapVenus (二次嗅覚ニューロンが膜結合蛍光蛋白質 gapVenus を発現)

④ 成果の位置付け・類似研究との比較

『臨界期』の神経ネットワーク構築の研究において、これまでは樹状突起スパイン形成・シナプス安定化の分子メカニズムに注目が集まり、MIT の Morgan Sheng のグループが中心となってスパイン形成を司る多くの機能分子が同定・解析されてきた。私たちはスパインの前駆体であり、運動性に富み、柔らかな構造体である樹状突起フィロポディアの形成・維持を促進する初めての分子としてテレンセファリンを同定し、その機能の重要性を示した。テレンセファリンによる樹状突起フィロポディア形成の論文 (J. Neurosci. 2006) の発表後、世界中の多くのグループが樹状突起フィロポディアの研究に着手し始め、今、静かなブームを迎えつつある。

これまでに多くの研究者たちが終脳ニューロンに外来性遺伝子を発現させる目的で CaMKII エンハンサー (約 9 kb) 利用してきた。我々が発見したテレンセファリンの終脳特異的転写調節エンハンサーは、1.1 kb という非常に短い発現制御領域で十分に機能することから、CaMKII エンハンサーよりも使いやすく、また高効率で遺伝子発現を誘導できることがわかった。これまでにこのテレンセファリン遺伝子エンハンサーを用いて作製した GFP、Cre、synaptotagmin 発現トランスジェニックマウスは現在すでに、国内外の研究グループによって利用され始めている。

## (2)研究成果の今後期待される効果

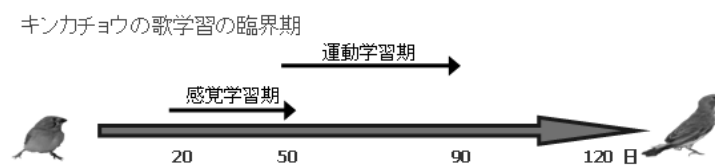
終脳特異的細胞接着分子テレンセファリンが、発達期のニューロンにおいて樹状突起フィロポディアの形成・維持に重要な役割を果たし、やわらかなシナプス構造・機能を保つ分子であることが明らかになった。この成果は、本研究領域のテーマ「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」に向けての最重要分子の1つを同定したと言っても過言ではないと思われる。今後は臨界期さらには成体における神経可塑性の過程で、テレンセファリンとその関連分子群が *in vivo* でどのような機能を果たすかを明らかにすることで、脳機能発達と学習の分子メカニズムについてより一層の理解が深まると期待される。またテレンセファリンが脳のやわらかさに関与する知見を報道発表した際には、研究者のみならず、数多くの一般の人々からも大きな反響があり、現代の脳ブームにおける「やわらかな脳」への注目の高さが窺い知れた。従って今後も「臨界期」、「脳のやわらかさ」、「テレンセファリン」をキーワードとした我々の研究の社会への波及効果はさらに大きなものになると予想される。

#### 4.4 発声行動学習における GABA 細胞と形態的可塑性の役割 (ヘスラーグループ、ヘンシユグループ)

##### (1) 研究実施内容及び成果

###### 背景

これまでにマウスの両眼視を司る大脳視覚野での臨界期形成機構の研究で示唆された「抑制性機構による臨界期の制御」という考えの普遍性を調べた。キンカチョウのオスは生後、親の歌を聞いて覚え (感覚学習期)、続いて歌発声を始めると自分で発声した歌と覚えた歌と摺り合わせることで (運動学習期) 自分の歌を獲得し、生涯維持する (下図)。これまでにこの感覚学習期が終了する頃 (50 日齢) では歌を発声するオスでのみ、歌発声に関わる脳内の運動神経核 RA 核で、GABA 陽性細胞の数が上昇する、という報告がある (Sakaguchi 1994)。そこで本研究においては、このキンカチョウの歌学習を用い、抑制性機構による臨界期の制御という観点からその臨界期形成機構を調べた。



##### ①GABA 抑制性機構の早期増強による歌学習の阻害

キンカチョウの歌学習における抑制性機構の発達の役割を調べるため、GABA 受容体のアゴニストであるベンゾジアゼピンを生後 20 日齢のキンカチョウ脳内に直接投与し、その後の歌学習の発達を見た。その結果、ベンゾジアゼピンの投与により抑制性機構が早期に増強されると、歌そのものの発達が悪く、親鳥からの歌学習も阻害された。

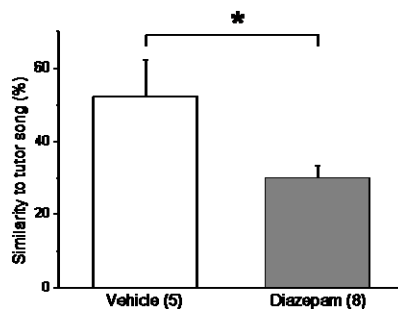


図 1 ベンゾジアゼピンの投与により歌学習が阻害される。  
ベンゾジアゼピンを投与した群では、コントロール群に比べ親鳥の歌に似ていない歌を歌う。

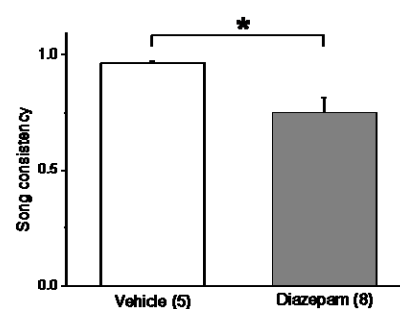


図 2 ベンゾジアゼピンの投与により不安定な歌を歌う。  
ベンゾジアゼピンを投与した群ではコントロール群に比べ歌の安定性が低い。

##### ②抑制性機構による感覚学習期の制御

早期に抑制性機構を増強することにより、なぜ歌学習が阻害されたのかを調べた。マウスの視覚系では抑制性機構を早期に増強すると、臨界期が早期に開始し、終了する。同様にキンカチョウの歌学習でも抑制性機構の早期増強により臨界期が早期に終了したために歌学習が阻害されたと考えられた。このことを明らかにするため、途中で親鳥を交換し、別の歌を聞かせ、どちらの歌を学習するのか調べた (図 3 左)。

通常、キンカチョウでは感覚学習期内に親鳥を交換すると、新しい親鳥の歌を学習することが知られている (Eales 1985, Yazaki-Sugiyama & Mooney 2004)。しかし、ベンゾジアゼピンを投与すると、最初の親が異種、新しい親が同種であるにも関わらず、新しい親の

歌からの学習が見られなかった。つまり、ベンゾジアゼピンの投与により抑制性機構が早期に増強されると、感覚学習期が早期に終了したことが示唆された。

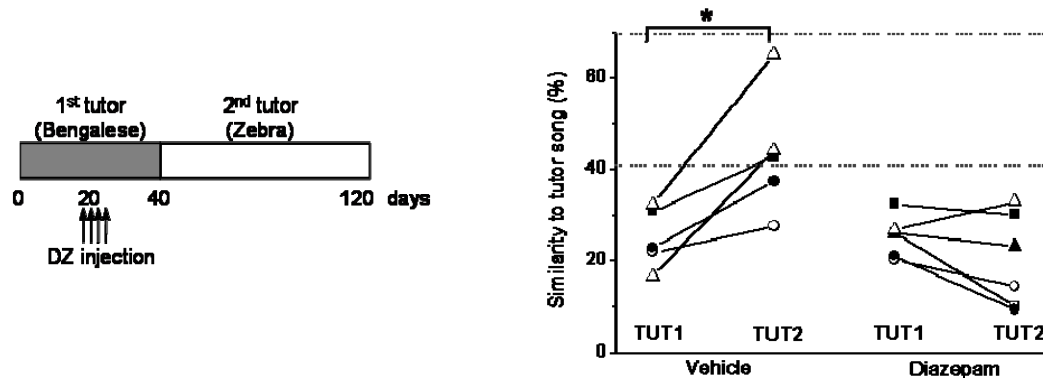


図3 ベンゾジアゼピンの投与により新しい親鳥からの学習が阻害される  
キンカチョウを生後すぐから40日までジュウシマツに育てさせ、その後キンカチョウに育てさせた。途中、20日でベンゾジアゼピンを投与しどちらの歌を学習するのか調べた(左)。コントロール群では新しい親(キンカチョウ)の歌を学習しているのに対し、ベンゾジアゼピンを投与した群では新しい親からの学習は見られない。

### ③ベンゾジアゼピンの脳内作用部位の同定

投与したベンゾジアゼピンが脳内のどの部位で、どの様に作用しているのか調べた。キンカチョウの歌学習・発声を司る脳内の神経回路「ソングシステム」が同定されている(図4)。その中でもHVC核、LMAN核の神経細胞は自身の歌、親鳥の歌に選択的な聴覚応答

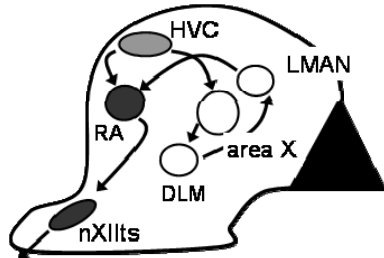


図4 ソングシステム

があることが知られており、この選択的な聴覚応答は歌学習に伴って発達するため、歌学習に重要な役割があることが示唆されている。本研究でベンゾジアゼピンの投与により新しい親からの歌学習が阻害されたキンカチョウのHVC核の神経細胞の歌選択性を見てみると、新しい親鳥の歌への選択性が見られなかった(図5)。

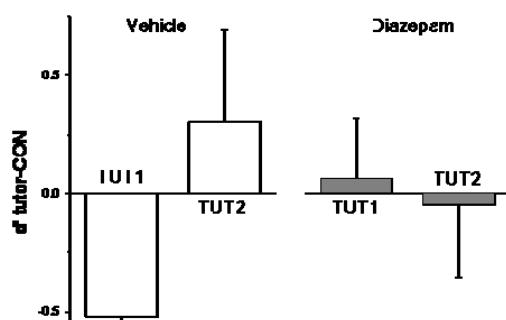


図5 HVC神経細胞の親鳥への歌選択性はベンゾジアゼピンによって阻害される  
コントロール群のHVC神経細胞は最初の親鳥の歌への歌選択性がなく、新しい親鳥の歌に選択性を示す。一方、ベンゾジアゼピンを投与した群ではどちらの歌にも選択性を示さない。

さらに、この HVC 核の抑制性細胞を見てみると、PV 陽性細胞の周りに、マウスの視覚系で臨界期の終了時に現れる細胞外マトリクス（Perineuronal Net:PNN s）の発現が早まっていることが見られた（図 6）。これらのことから、HVC 核がベンゾジアゼピンの作用する部位のひとつであること、この部位の神経細胞の生理学的、形態学的可塑性が臨界期に重要であること、抑制性機構の発達により、その可塑性が終了することが示唆された。

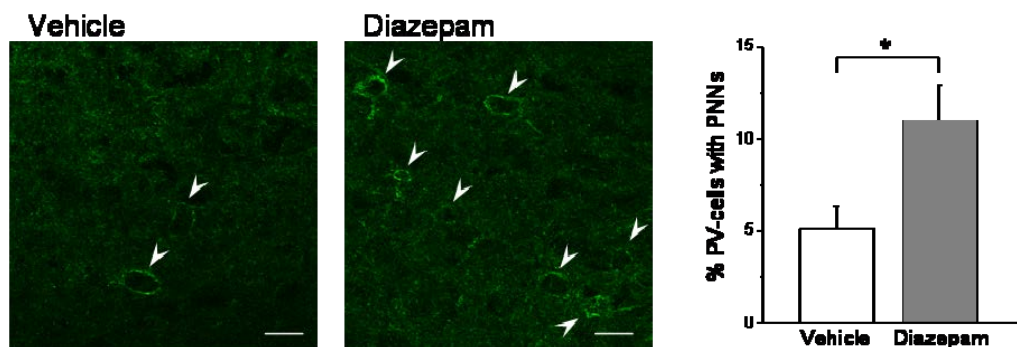


図 6 ベンゾジアゼピンの投与により PNN s の発現が促進される。  
20 日齢でベンゾジアゼピンを投与した群ではコントロール群に比べ PV 陽性細胞を囲む PNN s の発現が 50 日齢で増えていることが示された。

#### ④HVC 核内、細胞特異的カルシウムイメージング

HVC 核の神経細胞は 2 種類の投射細胞と、介在細胞の 3 種類に分類され、それぞれその聴覚応答に電気生理学的特徴がある（図 7）。

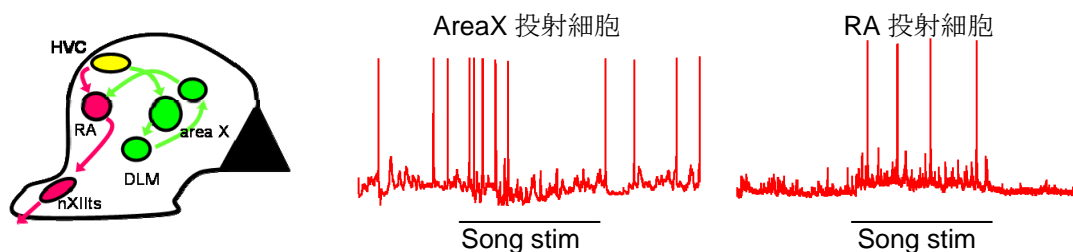


図 7 HVC 核内の 2 種類の投射細胞の聴覚応答の特徴

キンカチョウ脳内のソングシステム（左）。HVC 核からは AreaX 核、RA 核にそれぞれ投射がある。AreaX 投射細胞は自身の歌に対して IPSP とスパイク応答を（中）、RA 投射細胞は EPSP とスパイク応答を示す（右）。

そこで HVC 核からの 2 箇所の投射先 RA 核、AreaX 核にそれぞれカルシウムセンサーである yellowameleon (YC) を発現するアデノウイルスベクターを注入し、それぞれの投射細胞に選択的に YC を発現させ、その聴覚応答のカルシウムイメージングでの測定を試みた（図 8）。AreaX 投射細胞では聴覚応答時に発火のパターンが変わるものの、発火頻度としては変化が少ないため、カルシウムイメージングでの測定は難しく、また RA 投射細胞は反応が見られるものの、バラつきが大きいので、改良が必要である。本研究内では形態学的変化を

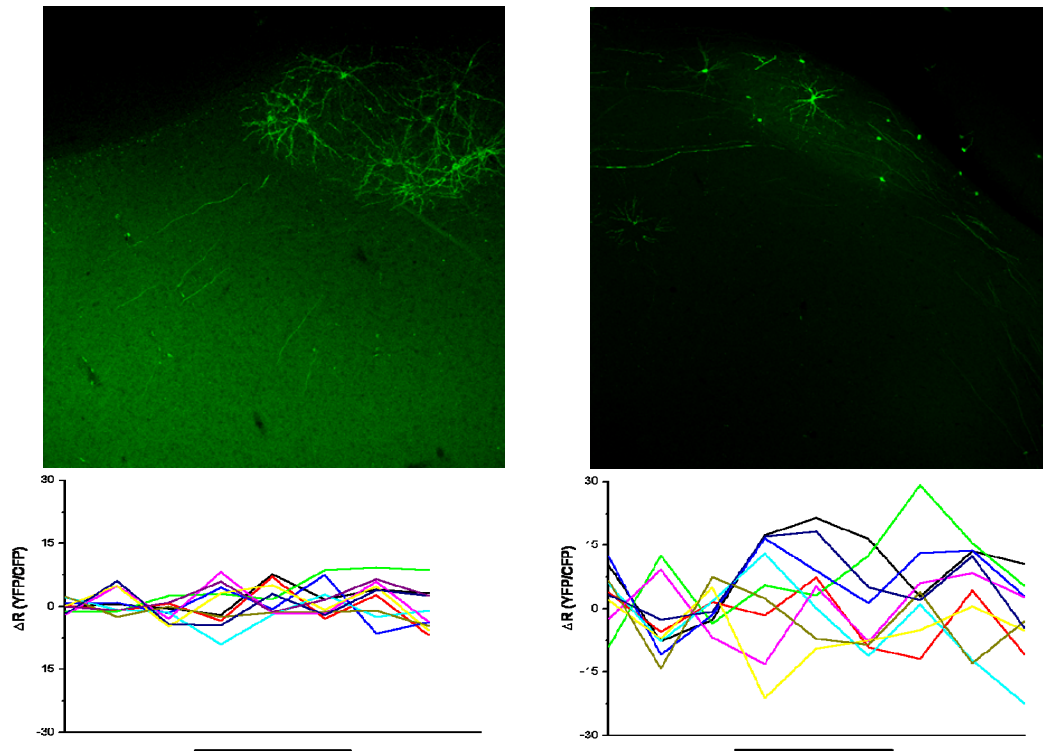


図8 AreaX 投射細胞と RA 投射細胞でのカルシウムイメージング  
AreaX 核と RA 核に YC を発現するアデノウィルスベクターを注入し、それぞれの投射細胞特異的に YC を発現させた。Axon の伸びている方向が左と右の写真では違っている。それぞれ自身の歌に対する聴覚応答をカルシウムイメージングで計測したのが下の図。RA 投射細胞では、再現性が低いものの、反応が見られる。

追う実験を終了できなかったが、今後、結果を得られる予定である。(①～③の結果、投稿準備中)

#### (2) 研究成果の今後期待される効果

本研究では、異なる動物種、システム間でも普遍的な臨界期の形成機構が存在することが示唆された。今後は他の動物への応用も期待される。特にキンカチョウの歌学習は、人間の言語発達のモデルになっているとも言われ、ヒトへの応用も期待できる。キンカチョウの歌学習は時間が掛かるため、イメージングでの結果を得ている最中で本研究期間内が終了してしまうが、今後結果が出ることが期待できる。

## § 5 成果発表等

(1) 原著論文発表 (国内 (和文) 誌 0 件、国際 (欧文) 誌 16 件)

### ヘンシュ グループ

1. Mataga, N., Mizuguchi, Y. & Hensch, T.K.: Experience-dependent pruning of dendritic spines in visual cortex by tissue plasminogen activator. *Neuron* 44, 1031-1041 (2004).
2. Mohler, H., Fritschy, J.M., Crestani, F., Hensch, T.K. & Rudolph, U.: Specific GABA<sub>A</sub> circuits in brain development and therapy. *Biochem. Pharmacol.* 68, 1685-1690 (2004).
3. Hensch, T.K. & Fagiolini, M.: Excitatory-inhibitory balance and critical period plasticity in developing visual cortex. *Prog. Brain Res.* 147, 115-124 (2004).
4. Hensch, T.K.: Critical period plasticity in local cortical circuits. *Nat. Rev. Neurosci.* 6, 1-12 (2005).
5. Hensch, T.K.: Recovery in the blink of an eye. *Neuron* 48, 166-168 (2005).
6. Hensch, T.K.: Critical period mechanisms in developing visual cortex. *Curr. Topics Dev. Biol.* 69, 215-237 (2005).
7. Katagiri, H., Fagiolini, M. & Hensch, T.K.: Optimization of somatic inhibition at critical period onset in mouse visual cortex. *Neuron* 53, No. 6, 805-812 (2007).
8. Yazaki-Sugiyama, Y., Kang, S., Câteau, H., Fukai, T. and Hensch, T.K. (2009) Bidirectional plasticity in fast-spiking GABA circuits by visual experience. *Nature* 462, 218-221 (2009).

### 吉原グループ

9. Sato, Y., Miyasaka, N. & Yoshihara, Y.: Mutually exclusive glomerular innervation by two distinct types of olfactory sensory neurons revealed in transgenic zebrafish. *J Neurosci.* 25, 4889-4897 (2005).
10. Matsuno, H., Okabe, S., Mishina, M., Yanagida, T., Mori, K. & Yoshihara, Y.: Telencephalon slows spine maturation. *J Neurosci.* 26, 1776-1786 (2006).
11. Hirata, T., Nakazawa, M., Yoshihara, Y., Miyachi, H., Kitamura, K., Yoshihara, Y. & Hibi, M.: Zinc-finger gene Fez in the olfactory sensory neurons regulated development of the olfactory bulb non-cell autonomously. *Development* 133, 1433-1443 (2006).
12. Oka, Y., Katada, S., Omura, M., Suwa M., Yoshihara, Y. & Touhara, K.: Odorant receptor map in the mouse olfactory bulb: in vivo sensitivity and specificity of receptor-defined glomeruli. *Neuron* 52, 857-869 (2006).
13. Sato, Y., Miyasaka, N. & Yoshihara, Y.: Hierarchical regulation of odorant receptor gene choice and subsequent axonal projection of olfactory sensory neurons in zebrafish. *J Neurosci* 27, 1606-1615 (2007).
14. Mitsui, S., Saito, M., Mori, K. & Yoshihara, Y.: A transcriptional enhancer that directs telencephalon-specific transgene expression in mouse brain. *Cereb Cortex* 17, 522-530 (2007).



15. Miyasaka, N., Knaut, H. & Yoshihara, Y.: Cxcl12/Cxcr4 chemokine signaling is required for placode assembly and sensory axon pathfinding in the zebrafish olfactory system. *Development* 134, 2459-2468 (2007).
16. Furutani, Y., Matsuno, H., Kawasaki, M., Sasaki, T., Mori, K. & Yoshihara, Y.: Interaction between telencephalin and ERM family proteins mediates dendritic filopodia formation. *J Neurosci.* 27, 8866-8876 (2007).

(2)その他の著作物（総説、書籍など）（国内（和文）誌 7 件、国際（欧文）誌 4 件）

#### ヘンシュ グループ

1. Hensch, T.K.: Critical period mechanisms in developing visual cortex. *Curr Top Dev Biol.* 69, 215-237 (2005)
2. Hensch, T.K.: Critical period plasticity in local cortical circuits. *Nat Rev Neurosci.* 6, 877-888 (2005)

#### 吉原グループ

3. 吉原良浩: 細胞認識・接着分子群による神経回路形成の制御: 嗅覚神経系をモデルシステムとして. *神経研究の進歩* 49, 105-114 (2005)
4. 宮坂信彦, 吉原良浩: 嗅覚神経回路形成を司る遺伝子群: slit/robo シグナルの役割を中心に. *Aroma Res.* 6, 259-264 (2005)
5. 吉原良浩: 終脳特異的樹状突起性細胞接着分子テレンセファリン. *Clin. Neurosci.* 23, 1206 (2005)
6. 吉原良浩: 匂い研究の現状と展望. *脳* 21 9, 131-132 (2006)
7. 吉原誠一, 吉原良浩: 嗅覚神経系の発達・機能を司る転写調節因子. *脳* 21 9, 133-138 (2006)
8. 吉原良浩: 樹状突起フィロポディア形成・維持による緩やかなシナプス成熟: 終脳特異的細胞接着分子テレンセファリンの役割. *生体の科学* 58, 130-134 (2007)
9. 宮坂信彦, 吉原良浩: 嗅神経投射の分子メカニズム. *JOHNS* 23, 719-724 (2007)
10. Yoshihara, Y., De Roo, M. & Muller, D.: Dendritic spine formation and stabilization. *Curr Opin. Neurobiol.* 19, 146-153 (2009)
11. Yoshihara, Y.: Immunoglobulin superfamily cell adhesion molecules. In “*Encyclopedic Reference of Neuroscience.*” 1923-1926 (2009)

(3)国際学会発表及び主要な国内学会発表

① 招待講演 (国内会議 20 件、国際会議 19 件)

#### ヘンシュグループ

1. Hensch, T.K.: GABA circuit control of visual cortical plasticity. *Ecole Normale Supérieure,*



2005 年 4 月, Paris, France

2. Hensch, T.K.: Critical period mechanisms in developing visual cortex. Cold Spring Harbor Laboratory Courses: Structure, Function & Development of Visual System, 2005 年 6 月, Cold Spring Harbor, USA
3. Hensch, T.K.: GABA circuit control of visual cortical plasticity. Queensland Brain Institute Brain Plasticity Symposium, University of Queensland, 2005 年 9 月, Brisbane, Australia
4. Hensch, T.K.: GABA circuit control of visual cortical plasticity. Second meeting, Lemanic Neuroscience Program, Les Diablerets, 2005 年 9 月, Switzerland
5. Hensch, T.K.: GABA circuit control of visual cortical plasticity: activation and reactivation. CNRS Ecole Normale Supérieure, 2005 年 10 月, Paris, France
6. Hensch, T.K.: GABA circuit control of visual cortical plasticity. Institute of Experimental Medicine, Hungary Academy of Science, 2005 年 10 月, Budapest, Hungary
7. Hensch, T.K.: Critical Period Mechanisms of Brain development. Second Annual Japan-German Frontiers of Science (JGFoS), 2005 年 11 月, Hayama, Japan
8. Hensch, T.K.: GABA circuit control of visual cortical plasticity. Pasteur Institute Euroconference “Sensory Perception: basic mechanisms and human disease”, 2006 年 3 月 Paris, France
9. Hensch, T.K.: GABA circuit control of visual cortical plasticity. Univ. Lausanne Dept. Neurobiology, 2006 年 3 月, Lausanne, Switzerland
10. ヘンシュ貴雄：臨界期のしくみ. 理化学研究所 一般公開日（特別講演），2005 年 4 月，和光市
11. ヘンシュ貴雄：経験で変わる若き脳. 第 1 回 CREST 公開シンポジウム，2005 年 11 月，東京
12. ヘンシュ貴雄：視覚の発達臨界期. 第 46 回日本視能矯正学会（特別講演），2005 年 11 月，大阪
13. ヘンシュ貴雄：大脳視覚野の臨界期：分子と神経回路機能の統合的研究. 文部科学省特定領域研究「統合脳」冬の公開シンポジウム，2005 年 12 月，東京
14. Hensch, T.K.: Critical period plasticity in local cortical circuits. 基生研セミナー，2006 年 1 月，岡崎
15. Hensch, T.K.: Pharmacological control of visual cortical plasticity. 岡山大学医学部眼科学教室セミナー，2006 年 1 月，岡山
16. ヘンシュ貴雄：脳を育む神経倫理. JST-RISTEX 脳神経倫理研究グループ「第 2 回脳神経倫理ワークショップ」，2006 年 1 月，東京
17. ヘンシュ貴雄：情動の科学的解明と教育等への応用. 文部科学省検討会，2006 年 1 月，東京

18. ヘンシュ貴雄：大脳皮質の発生と機能構築. COE シンポジウム、2006 年 3 月、岡崎
19. Hensch, T.K.: Critical period mechanisms in visual cortex. Plenary Lecture, 5th Forum of European Neuroscience (FENS Forum 2006) , (The Federation of European Neuroscience Societies), 2006 年 7 月, Vienna , Austria
20. Hensch, T.K.： 臨界期の仕組み, 第36回(2006)新潟神経学夏期セミナー：脳と心の基礎科学から 臨床まで最前線の研究者、臨床家に触れて体感しよう (新潟大学脳研究所、新潟脳神経研究会), 2006年7月, 新潟
21. Hensch, T.K.: Distinct adult perceptual learning and critical period plasticity in visual cortex. 25th Symposium of the Center for Visual Science, Statistical Learning and Brain Plasticity , 2006 年 5－6 月, Rochester , USA
22. Hensch, T. K.: Critical period plasticity in local cortical circuits. 大阪バイオサイエンス研究所マンスリーレクチャー, 2007年3月, 吹田
23. Hensch, T.K. : Mechanisms of critical period plasticity. システム神経生物学スプリングスクール2007「神経系の情報処理と発達」奈良先端科学技術大学院大学 2007年3月, 生駒
24. 俣賀 宣子, Hensch, T.K.: 大脳皮質の発達可塑性に関わるプロテアーゼ. 奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科「COE セミナー」, 2007 年 3 月, 生駒
25. Hensch T. K.: Critical period mechanisms of visual cortical plasticity, NIH Neuroscience Seminar Series/Guroff\_Memorial Lecture, National Institutes of Health, Bethesda, USA 2007 年, 4 月
26. Hensch T. K.: GABA circuit control of critical period plasticity, Mini-Symposium: Development and Plasticity of the Brain, 大阪大学、2008 年 8 月、吹田.
27. Yazaki-Sugiyama, Y. : Neuronal Development in the Context of Behavior: The Power of Birdsong. Society for Neuroscience annual meeting, Minisymposium, 2008 年 10 月

#### 吉原グループ

28. 吉原良浩, 北村邦夫, 吉原誠一: *Arx*: 嗅球内抑制性介在ニューロン発達と嗅覚神経回路構築に必須なホメオボックス型転写因子. 第 28 回日本神経科学大会 (Neuroscience 2005), 2005 年 7 月, 横浜
29. 吉原良浩, 佐藤友紀, 宮坂信彦: 蛍光蛋白質を用いたゼブラフィッシュ嗅覚神経系軸索投射メカニズムの解析. 科学研究費補助金・特定領域研究「統合脳」夏のワークショップ・サテライトシンポジウム, 2005 年 8 月, 長野
30. 吉原良浩: 終脳特異的樹状突起性細胞接着分子テレンセファリン: その歴史から今後の展望まで. 東京大学・機能生物学セミナー, 2005 年 10 月, 東京
31. 吉原良浩: 樹状突起フィロポディア形成を司る細胞接着分子テレンセファリン. 大阪大学・生命機能研究科セミナー, 2005 年 10 月, 大阪

32. 吉原良浩, 三津井五智子, 松野仁美: 終脳特異的樹状突起性細胞接着分子テレンセファリン-その樹状突起選択的局在化メカニズムと機能について-. 群馬大学・生体調節研究所シンポジウム「細胞内膜輸送のダイナミクス」, 2005 年 11 月, 前橋
33. 吉原良浩: 機能的嗅覚神経回路形成の分子機構解明へ向けて. 平成18年度日本味と匂学会第40回記念大会, 2006年7月, 福岡
34. 吉原良浩, 松野仁美, 古谷裕: 終脳特異的細胞接着分子テレンセファリンによる樹状突起フィロポディア形成の分子機構: ERM ファミリーアクチン結合蛋白質の関与. 第 30 回日本神経科学大会・第 50 回日本神経化学学会大会・第 17 回日本神経回路学会大会 (Neuro2007), 2007 年 9 月, 横浜
35. Miyasaka, N., Sato, Y. & Yoshihara, Y.: Molecular and genetic approaches to the zebrafish olfactory system. Seminar at Max-Planck Institute, 2005 年 7 月, Heiderberg, Germany
36. Yoshihara, Y.: Molecular genetic approaches to the zebrafish olfactory system Seminar at Hohenheim University, 2005 年 7 月, Stuttgart, Germany
37. Yoshihara, Y.: Dissecting the olfactory neural circuitry in transgenic zebrafish. 3rd International Symposium in Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception (Kyusyu University), 2005 年 11 月, Fukuoka, Japan
38. Yoshihara, Y.: Telencephalin slows synaptogenesis through interaction with ERM family proteins. 9th China-India-Japan-Korea Joint Workshop on Neurobiology and Neuroinformatics (NBNI-2007), 2007 年 7 月, Cheju, Korea
39. Yoshihara, Y.: Dissection of molecular machinery in dendritic filopodia. 6th Picower-RIKEN Neuroscience Symposium, 2007 年 11 月, Boston, USA

②口頭発表 (国内会議 5 件、国際会議 2 件)

ヘンシュ グループ

1. Hensch T.K. : Targeting vision: mechanisms of experience dependent cortical development. 第 109 回日本眼科学会総会, 2005 年 3 月, 京都
2. 岩井 陽一, Lester H. , Hensch T. K. : GABA uptake determines critical period plasticity in mouse visual cortex., 第 83 回日本生理学会大会 ,2006 年 3 月, 前橋
3. Yazaki-Sugiyama, Y.: Dynamic role of inhibition during visual cortical plasticity in mice. Gordon Research Conference -Neural circuit & plasticity, 2007 年 7 月, Neuport, USA

吉原グループ

4. 三津井五智子, 斉藤美知子, 森憲作, 吉原良浩: 終脳特異的遺伝子発現を誘導するテレンセファリンプロモーター領域の同定. 第 28 回日本神経科学大会 (Neuroscience 2005), 2005 年 7 月, 横浜
5. Miyasaka, N., Sato, Y. & Yoshihara, Y.: Deciphering the molecular basis of neural circuit

development in the zebrafish olfactory system. 4th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception, 2006 年 7 月, Fukuoka, Japan

ヘスラーグループ

6. 渡辺 愛子, Hessler, Neal: 鳴禽類成鳥の歌の可塑性における脳内歌制御核での神経細胞新生の役割, 第28回日本神経科学大会 (Neuroscience 2005), 2005年7月 横浜
7. 渡辺 愛子, Hessler, Neal: 鳴禽類成鳥の歌可塑性と終脳歌制御核内における神経細胞新生に及ぼす聴覚剥奪の影響, 第29回日本神経科学大会 (Neuroscience 2006), 2006年7月, 京都

③ ポスター発表 (国内会議 24 件、国際会議 23 件)

ヘンシュグループ

1. Katagiri, H. & Hensch, T.K.: Plasticity of somatic inhibition at critical period onset in mouse visual cortex. 34th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2004), 2004 年 10 月, San Diego, USA
2. Yazaki-Sugiyama, Y. & Hensch, T.K.: Balanced sub-threshold excitation-inhibition yields biased ocular dominance of spike selectivity in mouse visual cortex. 34th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2004), 2004 年 10 月, San Diego, USA
3. Mataga, N., Mizuguchi, Y., Takagi, Y.T. & Hensch, T.K.: Time course of experience-dependent dendritic spine plasticity by tissue-type plasminogen activator in mouse visual cortex. 34th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2004), 2004 年 10 月, San Diego, USA
4. Sugiyama, S., Volovitch, M., Prochiantz, A. & Hensch, T.K.: Specification of critical period plasticity by OTX2 homeoprotein in the visual pathway. 34th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2004), 2004 年 10 月, San Diego, USA
5. Hensch T.K.: Specific GABA circuits for visual cortical plasticity. Interneurons and Cortical Function a Fair and Balanced Workshop, NIPS Conference, 2004 年 12 月, Whistler, B.C., Canada
6. Iwai Y., Lester H. and Hensch T. K.: GABA uptake determines critical period onset in mouse visual cortex., 35th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2005), 2005 年 11 月, Washington, USA
7. Fagiolini M., Iwai Y., Mishina M., Yoshihara Y. and Hensch T. K.: Experience-independent maturation of selected visual response properties in telencephalin knock-out mice, 35th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2005), 2005 年 11 月, Washington, USA
8. Yazaki-Sugiyama, Y. & Hensch, T.K.: Experience dependent plasticity modulates transformation of subthreshold excitation-inhibition into spike bias in mouse visual cortex. 35th Annual Meeting of Society for Neuroscience, 2005 年 11 月, Washington, USA

9. 岩井 陽一, Atapour N. , Renger J. , Roder J. , Seeburg P. & Hensch T. K. : Experience-dependent plasticity in the absence of AMPA receptor subunits in mouse visual cortex., 第 29 回日本神経科学大会 (Neuroscience 2006) ,2006 年 7 月, 京都
10. Iwai Y. , Atapour N. , Renger J. , Roder J. , Seeburg P. & Hensch T. K. : "Sequential role of AMPA receptor subunits in ocular dominance plasticity", 36th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2006)、 2006 年 11 月 Atlanta, USA
11. Yazaki-Sugiyama, Y., Kushner, J., Hessler, N.A. & Hensch, T.K. : Early enhancement of inhibitory function disrupts zebra finch song learning. 36th Annual Meeting of Society for Neuroscience, 2006 年 11 月 Atlanta, USA
12. 岩井 陽一, Fagiolini M. , 水口 陽子, 吉原 良浩, 三品 昌美, & Hensch T. K. : Accelerated maturation of visual response properties in telencephalin knockout mice, 第 30 回日本神経科学大会・第 50 回日本神経化学学会大会・第 17 回日本神経回路学会大会 (Neuro2007), 2007 年 9 月、横浜
13. Yazaki-Sugiyama, Y., Kushner, J., Hessler, N.A. & Hensch, T.K. : Premature closure of sensory learning period by early GABA enhancement in bird song learning. 第 30 回日本神経科学大会・第 50 回日本神経化学学会大会・第 17 回日本神経回路学会大会 (Neuro2007)、 2007 年 9 月、横浜
14. Yazaki-Sugiyama, Y., Kushner, J., Hessler, N.A. & Hensch, T.K. : Early closure of sensory period by enhancement of inhibitory function in bird song learning. 37th Annual Meeting of Society for Neuroscience, 2007 年 11 月, San Diego, USA
15. Yazaki-Sugiyama, Y., Kushner, J., Hessler, N.A. & Hensch, T.K. : GABA function regulates critical period for song learning in zebra finch. 日本神経科学大会、2009 年 9 月、名古屋

#### 吉原グループ

16. 松野仁美, 岡部繁男, 三品昌美, 柳田敏雄, 森憲作, 吉原良浩: 細胞接着分子テレンセファリンはスパイン成熟を遅らせる. 第 28 回日本神経科学大会 (Neuroscience 2005), 2005 年 7 月, 横浜
17. 吉原誠一, 平田務, 日比正彦, 北村邦夫, 吉原良浩: Interdependence of the olfactory axon projection and the olfactory bulb formation revealed in *Fez*- and *Arx*- deficient mice. 平成 18 年度日本味と匂学会第 40 回記念大会, 2006 年 7 月, 福岡
18. 壁田明子, 吉原良浩, 岡勇輝, 大村真代, 東原和成: マウス嗅覚受容体 mOR-EG 発現嗅神経細胞の軸索投射および匂い応答の解析. 平成 18 年度日本味と匂学会第 40 回記念大会, 2006 年 7 月, 福岡
19. 宮坂信彦, 吉原良浩: 嗅覚プラコード形成と嗅細胞軸索投射におけるケモカインの役割. 平成 18 年度日本味と匂学会第 40 回記念大会, 2006 年 7 月, 福岡
20. 佐藤友紀, 宮坂信彦, 吉原良浩: BAC トランスジェニックゼブラフィッシュを用いた嗅細胞軸索投射様式の可視化解析. 平成 18 年度日本味と匂学会第 40 回記念大会, 2006 年 7 月, 福岡

21. 佐藤友紀, 宮坂信彦, 吉原良浩: BACトランスジェニックゼブラフィッシュにおける嗅覚受容体遺伝子選択の階層的制御. 第29回日本神経科学大会 (Neuroscience 2006), 2006年7月, 京都
22. 佐藤友紀, 宮坂信彦, 吉原良浩: Hierarchical regulation of odorant receptor choice in BAC transgenic zebrafish. 第12回小型魚類研究会, 2006年9月, 三島
23. 宮坂信彦, 吉原良浩: Chemokine signaling is required for placode assembly and sensory axon pathfinding in the zebrafish olfactory system. 第12回小型魚類研究会, 2006年9月, 三島
24. 古谷裕, 松野仁美, 川崎美和, 佐々木雄彦, 森憲作, 吉原良浩: 樹状突起フィロポディア形成を促進するテレンセファリンと ERM タンパク質との相互作用. 第30回日本神経科学大会・第50回日本神経化学学会大会・第17回日本神経回路学会大会 (Neuro2007), 2007年9月, 横浜
25. 古谷裕, 川崎美和, 松野仁美, 森憲作, 吉原良浩: テレンセファリンとビトロネクチンとの相互作用による Phagocytic Synapse 形成機構. 第32回日本神経科学大会 (Neuroscience 2009), 2009年9月, 名古屋
26. Miyasaka, N., Sato, Y., Yeo, S., Hutson, L.D., Chien, C., Okamoto, H. & Yoshihara, Y.: Robo2 mediates the formation of an initial axon scaffold essential for establishment of a precise glomerular map in the zebrafish olfactory system. 2005年7月, 4th European Zebrafish Genetics and Development Meeting, Dresden, Germany
27. Sato, Y., Miyasaka, N. & Yoshihara, Y.: Mutually exclusive glomerular innervation by two distinct types of olfactory sensory neurons revealed in transgenic zebrafish. 2005年7月, 4th European Zebrafish Genetics and Development Meeting, Dresden, Germany
28. Katada, S., Oka, Y., Omura, M., Yoshihara, Y. & Touhara, K.: Neuroanatomical and functional characterization of mOR-EG gene-targeted mice: axon convergence and odorant responses. 28th Annual Meeting Association for Chemoreception Sciences (AChemS 2006), 2006年4月, Sarasota, USA
29. Miyasaka, N. & Yoshihara, Y.: A dual role of chemokine signaling during development of the zebrafish olfactory system: cell positioning and axon pathfinding. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, 2006年6月, Kyoto, Japan
30. Furutani, Y., Matsuno H., Kawasaki M., Mori, K. & Yoshihara, Y.: Interaction between telencephalin and ERM proteins in dendritic filopodia. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, 2006年6月, Kyoto, Japan
31. Mitsui, S., M. Saito, M., K. Mori, K. & Yoshihara, Y.: A transcriptional enhancer that directs telencephalon-specific transgene expression in mouse brain. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, 2006年6月, Kyoto, Japan
32. Furutani, Y., Matsuno, H., Kawasaki, M., Mori, K., & Yoshihara Y.: Dendritic filopodia

formation is mediated by specific interaction between telencephalin and ERM proteins. 36th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2006), 2006 年 10 月, Atlanta, USA

33. Matsuno, H., Okabe, S., Mishina, M., Yanagida, T., Mori, K. & Y. Yoshihara, Y.: Telencephalin slows spine maturation. 36th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2006), 2006 年 10 月, Atlanta, USA
34. Mitsui, S., M. Saito, M., Mori, K. & Yoshihara, Y.: Transcriptional enhancer that directs telencephalon-specific transgene expression in mouse brain. 36th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2006), 2006 年 10 月, Atlanta, USA
35. Katada, S., Oka, Y., Omura, M., Yoshihara, Y. & Touhara, K.: Characterization of mOR-EG-expressing olfactory sensory neurons: Transgenic and gene-targeting approaches. 36th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2006), 2006 年 10 月, Atlanta, USA
36. Kaneko-Goto, S. Yoshihara, S. & Yoshihara, Y.: Expression of axonal glycoprotein BIG-2 correlates with odorant receptor choice in mouse olfactory sensory neurons. 36th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2006), 2006 年 10 月, Atlanta, USA
37. Sato, Y., Miyasaka, N. & Yoshihara, Y.: Hierarchical regulation of odorant receptor choice and axonal projection of olfactory sensory neurons revealed in BAC transgenic zebrafish. 36th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2006), 2006 年 10 月, Atlanta, USA
38. Miyasaka, N. & Yoshihara, Y.: Chemokine signaling is required for placode assembly and sensory axon pathfinding in the zebrafish olfactory system. 36th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2006), 2006 年 10 月, Atlanta, USA
39. Furutani, Y., Matsuno, H., Kawasaki, M., Sasaki, T., Mori, K. & Yoshihara, Y.: Dendritic filopodia formation is mediated by the interaction between telencephalin and ERM family proteins. Neuro2007 Satellite Symposium/ The 2nd MCCA-Asia Symposium/ Unraveling Higher Brain functions: Recent Progress with Animal Models II, 2007 年 9 月, Yokohama, Japan
40. Yoshihara, Y., Sasaki, T., Mori, K. & Furutani Y.: Telencephalin, ERM family proteins, PI(4,5)<sub>2</sub>, and actin: molecular machinery in dendritic filopodia. International Symposium on Membrane Traffic, 2007 年 11 月, Awaji, Japan
41. Furutani, Y., Kawasaki, M., Matsuno, H., Mori, K. & Yoshihara, Y.: Interaction between telencephalin and vitronectin induces phagocytic synapses on neuronal dendrites. 39th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (Neuroscience2009) 2009 年 10 月, Chicago, USA

#### ヘスラーグループ

42. 渡辺 愛子 & Hessler, Neal: 鳴禽類成鳥の歌の可塑性における脳内歌制御核での神経細胞新生の役割, 日本動物学会第75回大会, 2004年9月, 神戸
43. Watanabe A & Hessler N.: The role of neurogenesis in song control nuclei on song

plasticity of adult songbirds, 29th International Ethological Conference (IEC 2005), 2005  
年8月 Budapest, Hungary

44. 渡辺 愛子, 坂口 博信, Hessler, Neal: キンカチョウ成鳥雄の歌パターンに及ぼす聴覚入力遮断の影響: ジュウシマツとの比較, 日本動物学会第76回大会, 2005年10月, つくば
45. 渡辺 愛子, Hessler, Neal: 鳴禽類成鳥の歌可塑性と歌制御核内の神経細胞新生に及ぼす聴覚遮断の影響: 日本動物行動学会第24回大会, 2005年11月, 三鷹
46. 渡辺 愛子, Hessler, Neal: 鳴禽類成鳥における聴覚剥奪が誘導する歌可塑性と終脳歌制御核内の神経細胞新生, 日本動物学会第77回大会, 2006年9月, 松江
47. Watanabe A & Hessler N.: Song plasticity relates to neurogenesis in song control nuclei of adult songbirds, 8th International Congress of Neuroethology (ISN 2007 Congress), 2007年7月, Vancouver, Canada

#### (4) 知財出願

- ① 国内出願 (0 件)
- ② 海外出願 (0 件)
- ③ その他の知的財産権

#### (5) 受賞・報道等

##### ① 受賞

ヘンシュ グループ

1. US SfN Young Investigator Award Takao Hensch (2005 年 11 月 14 日)
2. 「2005 年 NISTEP な研究者」(MEXT) ヘンシュ 貴雄 (2006 年 1 月 18 日)
3. 平成 18 年度文部科学大臣科学技術賞 (研究部門) ヘンシュ 貴雄 (2006 年 4 月 18 日)

吉原グループ

4. 日本味と匂学会 研究奨励賞 吉原良浩 (2006 年 7 月 12 日)

##### ② マスコミ (新聞・TV 等) 報道

新聞報道

ヘンシュグループ

1. 子ども大変時代 視覚と臨界期 脳固まる“期限”延ばせるか. 産経新聞, (2005 年 6 月 27 日)



2. 子ども大変時代 睡眠の影響 8歳までに規則正しい習慣を. 産経新聞, (2005年8月22日)
3. 脳神経科学分野の最高権威の賞-理研のグループディレクターが受賞. 化学工業日報, (2005年11月16日)
4. 北米神経学会から若手科学者賞 理研のヘンシュ氏が受賞. 日刊工業新聞, (2005年11月16日)
5. 北米神経学会若手科学者賞 理研・ヘンシュ氏が受賞. 科学新聞, (2005年11月25日)
6. この人 北米神経学会の若手科学者賞に選ばれたヘンシュ貴雄さん. 東京新聞, (2005年12月23日)
7. 脳の「臨界期」仕組みを解明. 日経産業新聞 (2007年3月15日)
8. 脳が発達する臨界期開始 神経細胞の抑制伝達重要. 日刊工業新聞 (2007年3月15日)
9. 学習能力の神経構築する「臨界期」抑制伝達機構を解明. 化学工業日報 (2007年3月15日)

#### 吉原グループ

10. 脳しなやかにキープ-たんぱく質の働きを発見. 読売新聞, 夕刊 (2006年2月8日)
11. 脳の柔軟さ保つたんぱく質発見-理研など研究チーム. 日本経済新聞, 夕刊, (2006年2月8日)
12. 終脳たんぱく質がシナプスを柔軟に-理研がメカニズム解明. 日刊工業新聞, (2006年2月8日)
13. 脳を柔軟に保つたんぱく質-理研など発見、疾患の解明に期待. フジサンケイ ビジネスアイ, (2006年2月9日)
14. 脳を柔軟に保つたんぱく質発見-理研など研究グループ、記憶障害など、治療法確立に道. 化学工業日報, (2006年2月9日)
15. 脳の柔軟性保つたんぱく質解明-発達障害治療への期待. しんぶん赤旗, (2006年2月9日)
16. 脳の柔らかさ保つタンパク質発見-理研、東大などの共同研究チーム脆弱性X症候群、新薬開発研究への期待. 科学新聞, (2006年2月10日)

### ③その他

#### ヘンシュグループ

1. あるある大辞典 2 第 53 回「夢診断でわかる！本当のあなた」フジテレビ，（2005 年 4 月 17 日）
2. 「早期教育は有効か才能が伸びる臨界期はいつ？」経キッズプラス 4 月号（通巻 5 号），（2005 年 12 月 14 日）
3. 「後伸び脳」の育て方 AERA，（2006 年 3 月 22 日）
4. 天皇陛下との懇談会（2006 年 3 月）

## § 6 研究期間中の主な活動（ワークショップ・シンポジウム等）

| 年月日         | 名称  | 場所       | 参加人数    | 概要   |
|-------------|---|----------|---------|--|
| 2005. 7. 20 | 第 28 回日本神経科学大会<br>First International Neuroethics<br>Symposium  | 横浜       | 約 300 人 | 脳を育む神経倫理の発表<br>を企画、座長を務めた（ヘ<br>ンシュ）。   |
| 2006. 10. 4 | The 3 <sup>rd</sup> International<br>Symposium on Molecular and<br>Neural Mechanisms of Taste<br>and Olfactory Perception | 九州<br>大学 | 約 200 人 | 嗅覚・味覚研究の最先端を<br>行く研究者が一堂に会し、<br>最新の成果について発表<br>を行った。その嗅覚セッシ<br>ョンの企画・座長を務めた<br>（吉原）。 |

## § 7 結び

本研究において、「臨界期」の基本となる、やわらかなシナプス構造・機能を保つ、終脳特異的細胞接着分子テレンセファリンが、発達期のニューロンにおいて樹状突起フィロポディアの形成・維持に重要な役割を果たしていることが明らかになった。この成果は、本研究領域のテーマ「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」に向けての最重要分子の 1 つを同定した。また、特定の抑制性細胞 PV 細胞に注目し、形態学的解析、生理学的解析、さらには病理モデルの行動解析まで、多方面に研究の目標を上った。アデノウイルスベクター技術開発やイメージングへの応用においては、更なる展開が要求されるものの、言語獲得の動物モデルとなるキンカチョウや自閉症モデルマウスにて、共通した特定の抑制性細胞の役割が解明された。今後の研究が進むことにより、弱視だけでなく、精神疾患の治療などにも新しい知見をもたらすことが期待できる。