

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名 : (日本語) 革新的先端研究開発支援事業 ユニットタイプ「脳神経回路の形成・動作原理の解明と制御技術の創出」研究領域  
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation (AMED-CREST) Elucidation of the Principles of Formation and Function of the Brain Neural Network and Creation of Control Technologies
- 研究開発課題名 : (日本語) 神経細胞の個性がつくる神経回路とセルアセンブリ  
(英語) Neuronal individuality providing neural circuit formation and cell assembly
- 研究開発担当者 (日本語) 大阪大学 大学院生命機能研究科 教授 八木 健  
所属 役職 氏名 : (英語) Graduate School for Frontier Biosciences, Osaka University, Professor, Takeshi Yagi
- 実施期間 : 平成 28 年 4 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) 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  
開発課題名 : (英語) Analysis of neural network formation using iPS cells established from cPcdh gene-deleted mice  
研究開発分担者 (日本語) 生理学研究所 准教授 平林 真澄  
所属 役職 氏名 : (英語) National Institute for Physiological Sciences, Associate Professor, Masumi Hirabayashi
- 分担研究 (日本語) 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  
開発課題名 : (英語) Analysis of higher sensory cortices using flavoprotein fluorescence imaging and 2 photon microscopy  
研究開発分担者 (日本語) 新潟大学 脳研究所 教授 澁木克栄  
所属 役職 氏名 : (英語) Brain Research Institute, Niigata University, Professor, Katsuei Shibuki

## II. 成果の概要（総括研究報告）

平林真澄准教授（生理学研究所）、澁木克栄教授（新潟大学 脳研究所）らのグループとともに、個々の神経細胞で異なる組み合わせ発現をするクラスター型プロトカドヘリン（cPcdh）遺伝子群に注目し、神経細胞の個性が生まれる分子メカニズム、神経細胞の個性がつくる神経回路の構築と機能形成メカニズムの解析を行った。

八木グループでは、神経細胞の個性が生まれる分子メカニズムを明らかにした。マウスで 58 種類ある cPcdh  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  遺伝子群の中で、53 種類の遺伝子が個々の神経細胞でランダムな組み合わせ発現をすることを、プルキンエ細胞を用いることにより明らかにした。1 神経細胞あたり 2 種の  $\alpha$  遺伝子群、4 種の  $\beta$  遺伝子群、4 種の  $\gamma$  遺伝子群がランダムな組み合わせ発現をしていることが明らかとなった。また、このランダム発現に染色体構造制御因子 CTCF（CCCTC-binding factor）、DNA メチル化酵素 Dnmt3b が関与していることをコンディショナルな CTCF 欠損マウス作製、Dnmt3b 欠損人工多能性幹（iPS）細胞を用いることにより明らかにした。さらに、対立遺伝子間での Cre/loxP 組み換えを利用して  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  遺伝子クラスターを様々な組み合わせで欠損させたマウス（ $\Delta\alpha$ 、 $\Delta\beta$ 、 $\Delta\gamma$ 、 $\Delta\alpha\beta$ 、 $\Delta\beta\gamma$ 、 $\Delta\alpha\beta\gamma$ ）を作製し、脊髄や脳幹における神経細胞死が  $\Delta\alpha\beta$  マウスでも低い頻度で起こるが、 $\Delta\gamma$  マウスにおいて顕著であり、また  $\Delta\gamma$  単独に比べ  $\Delta\beta\gamma$ 、 $\Delta\alpha\beta\gamma$  で頻度が高くなること、および嗅神経投射の異常が  $\Delta\alpha$ 、 $\Delta\beta$ 、 $\Delta\gamma$  で同様に認められることを明らかにした。cPcdh を全て欠損させた  $\Delta\alpha\beta\gamma$  マウスでは、脳幹網様体や脊髄の介在ニューロンの機能的神経回路の異常、海馬の神経細胞の自発的神経活動パターンの異常が認められたことから、cPcdh が機能的な神経回路形成に関わることが明らかとなった。

平林グループでは、iPS 細胞を用いたキメラマウスを用いることにより、同じ神経幹細胞由来の神経細胞が脳皮質体性感覚野 4 層において高頻度で双方性結合をしていることを明らかにした。また、この高い双方向性結合の形成に、発生初期に発現する DNA メチル化酵素 Dnmt3b と cPcdh 遺伝子群が関わることを示して、発生初期に決定される cPcdh 遺伝子群のランダム発現が皮質の神経回路特性を規定していることを明らかにした。

澁木グループは、cPcdh 遺伝子群の多様性と脳機能との関連性を、マウスの行動と in vivo フラビン蛋白蛍光イメージング法による神経活動計測により解析した。その結果、cPcdh  $\alpha$  多様性変換マウス（cPcdh  $\alpha$  1/12 マウス）では、後部頭頂連合野が担うヒゲと視覚から得られる空間情報の統合機能、および視覚的短期記憶が障害されることを明らかにし、cPcdh の多様性発現が高次脳機能を担う神経回路形成に関与することを示唆した。

加えて、本研究では cPcdh 遺伝子群による Gene Matched Network モデルを構築し解析した結果、神経細胞でのランダムな組み合わせ発現と特異的回路形成により、高いクラスター性（集団性）と全ての神経細胞が短い距離で繋がり合っているスモールワールド性を有するネットワークが自律的に形成できることが明らかになった。これらの結果は、cPcdh 遺伝子群が脳神経においてスモールワールド性などの神経回路特性をもたらす遺伝子群である可能性を強く示唆するものである。この様に、本研究成果により、cPcdh 遺伝子群による神経細胞の個性化メカニズムが、複雑な神経回路形成と機能的な脳機能制御に関わることが示唆された。また、cPcdh の発現やエピゲノムの変化が、自閉症、統合失調症、躁鬱病、ダウン症候群、パーキンソン病、自殺、幼少期の虐待、妊娠時におけるアルコールによる発達障害などで認められることが明らかとなっており、今後本研究を進展させることにより、精神神経疾患のメカニズム解明や治療法の開発が期待できる。

The brain contains an enormous number of neurons, which are assembled into functional neural networks and also retain individuality. Clustered protocadherin (cPcdh) molecules are candidates for the molecular codes that provide neuronal individuality and specific neural network formation. In this study, we investigate the molecular mechanisms responsible for generating local neural networks and functional cell assembly in the brain by using molecular tools and manipulations to control the expression and function of cPcdh molecules.

Yagi group revealed random and combinatorial gene expression of 53 cPcdh members in each individual neuron. Each neuron expresses 2 *Pcdh- $\alpha$* , 4 *Pcdh- $\beta$*  and 4 *Pcdh- $\gamma$*  members. CTCF (CCCTC-binding factor) regulates their random expression in individual neurons accompanied by configuration of DNA-looping of chromatin structure. And Dnmt3b, that specifically modifies DNA methylation in the promoters of *cPcdh* genes during early embryonic stage, controls the DNA methylation and the expression patterns of *cPcdh* genes in individual neurons. In addition, we analyzed distinct and cooperative functions of the *Pcdh* clusters by generating six cluster-deletion mutants ( $\Delta\alpha$ ,  $\Delta\beta$ ,  $\Delta\gamma$ ,  $\Delta\alpha\beta$ ,  $\Delta\beta\gamma$ , and  $\Delta\alpha\beta\gamma$ ). Although neurodegeneration was most severe in  $\Delta\gamma$  among  $\Delta\alpha$ ,  $\Delta\beta$  and  $\Delta\gamma$ , it was further enhanced in  $\Delta\alpha\beta\gamma$  mutants, indicating that *Pcdh- $\alpha$*  and *Pcdh- $\beta$*  function for neuronal survival cooperatively with *Pcdh- $\gamma$* . In order to approach the postnatal function and characteristics of the clustered-Pcdh-null ( $\Delta\alpha\beta\gamma$ ) neural circuits, we generated the chimeric mice that transplant  $\Delta\alpha\beta\gamma$  iPS cells into mouse embryos. The surviving chimeric mice with a high contribution of  $\Delta\alpha\beta\gamma$  cells exhibited paralysis accompanied by their autonomous apoptosis of neurons in the reticular formation of the brainstem, and died in the postnatal period. In cultured hippocampal neurons, the spontaneous network activity of  $\Delta\alpha\beta\gamma$  neurons appeared more synchronized and lost the variability in the number of simultaneously active neurons found in the control. Thus cPcdh molecules are required for building normal functional circuits.

Hirabayashi group showed that cortical excitatory neurons generated from the same neural stem cell establish reciprocal synaptic connections in the same layer of the mouse barrel cortex. Furthermore, Dnmt3b and/or cPcdh deficiencies in clonal neuron pairs impaired the formation and stabilization of connections to establish lineage-specific connection reciprocity. Thus random expression and function of cPcdh molecules regulate network topology among individual neurons.

Shibuki group found that visual map shifts in the primary visual cortex are induced by depression with spatial eccentricity between each eye and whisker. Interestingly *Pcdh- $\alpha$*  null mice disrupt the visual map shifts based on whisker-guided cues. Thus *Pcdh- $\alpha$*  molecules are required for building the neural networks for higher sensory integration in the cortex.

In addition, we propose a novel neural network model (named as Gene-Matched Network), which reveals that cPcdh molecules are candidates for the molecular codes for specific neural network formation. The gene-matched network provides a small-world network with short path length and high clustering coefficient. These results indicated that mechanism of generating neuronal individuality by *cPcdh* genes display significant roles for building functional complex neural networks in the brain. Epigenetic modification and genetic polymorphism of *cPcdh* genes are related to several neurological dysfunction and psychiatric diseases, suggesting that proceeding of our results will provide understanding and developing therapeutic approaches against these diseases.

・ 研究開発分担者による報告の場合

研究開発代表者： 大阪大学・生命機能研究科・八木 健 総括研究報告を参照。

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 7件、国際誌 24件）

1. 香取将太, 八木健. CNR/プロトカドヘリン分子群変異マウス(神経軸索の投射). 疾患モデルの作製と利用—脳・神経疾患. 2011, 277-290.
2. Yamashita H, Chen S, Komagata S, Hishida R, Iwasato T, Itohara S, Yagi T, Endo N, Shibata M, Shibuki K. Restoration of contralateral representation in the mouse somatosensory cortex after crossing nerve transfer. PLoS ONE. 2012, 7, e35676.
3. Yagi T. Molecular codes for neuronal individuality and cell assembly in the brain. Front Mol Neurosci. 2012, 5, 45.
4. Hirano K, Kaneko R, Izawa T, Kawaguchi M, Kitsukawa T, Yagi T. Single-neuron diversity generated by protocadherin- $\beta$  cluster in mouse central and peripheral nervous systems. Front Mol Neurosci. 2012, 5, 90.
5. Hirayama T, Tarusawa E, Yoshimura Y, Galjart N, Yagi T. CTCF is required for neural development and stochastic expression of clustered Pcdh genes in neurons. Cell Rep. 2012, 2, 345-357.
6. Hasegawa S, Hirabayashi T, Kondo T, Inoue K, Esumi S, Okayama A, Hamada S, Yagi T. Constitutively expressed protocadherin- $\alpha$  regulates the coalescence and elimination of homotypic olfactory axons through its cytoplasmic region. Mol Neurosci. 2012, 5, 97.
7. Hirayama T, Yagi T. Clustered protocadherins and neuronal diversity. Prog Mol Biol Transl Sci. 2013, 116, 145-167.
8. Honma Y, Tsukano H, Horie M, Ohshima S, Tohmi M, Kubota Y, Takahashi K, Hishida R, Takahashi S, Shibuki K. Auditory cortical areas activated by slow frequency-modulated sounds in mice. PLoS ONE. 2013, 8, e68113.
9. Yoshitake K, Tsukano H, Tohmi M, Komagata S, Hishida R, Yagi T, Shibuki K. Visual map shifts based on whisker-guided cues in the young mouse visual cortex. Cell Rep. 2013, 5, 1365-1374.
10. Yagi T. Genetic basis of neuronal individuality in the mammalian brain. J Neurogenet. 2013, 27, 97-105.
11. 平林敬浩, 八木健. 多様化したカドヘリン様膜分子群クラスター型プロトカドヘリンの生理機能. 生体の科学. 2013, 64, 450-451.

12. 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. Developmental epigenetic modification regulates stochastic expression of clustered protocadherin genes, generating single neuron diversity. *Neuron*. 2014, 82, 94-108.
13. 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. *Sci Rep*. 2014, 4, 6263.
14. Hirabayashi T, Yagi T. Protocadherins in neurological diseases. *Cell Adhesion Molecules Volume 8 of the series Advances in Neurobiology*. 2014, 293-314.
15. 豊田峻輔, 八木健. 発生期におけるエピジェネティックな修飾はクラスター型プロトカドヘリン遺伝子の確率的な発現を制御し個々のニューロンを多様化する. *ライフサイエンス新着論文レビュー*. 2014. (<http://first.lifesciencedb.jp/archives/8634>)
16. 豊田峻輔, 八木健. 脳神経系の再生医学 発表と再生の融合的新展開. 第 2 章細胞と回路の形成制御 6 神経回路形成機構. 2014, 55-59.
17. Bruining H, Matsui A, Oguro-Ando A, Kahn RS, Van't Spijker HM, Akkermans G, Stiedl O, van Engeland H, Koopmans B, van Lith HA, Oppelaar H, Tieland L, Nonkes LJ, Yagi T, Kaneko R, Burbach JPH, Yamamoto N, Kas MJ. Genetic mapping in mice reveals the involvement of Pcdh9 in long-term social and object recognition, and sensorimotor development. *Biol Psychiatry*. 2015, 78(7), 485-95.
18. Meguro R, Hishida R, Tsukano H, Yoshitake K, Imamura R, Tohmi M, Kitsukawa T, Hirabayashi T, Yagi T, Takebayashi H, Shibuki K. Impaired clustered protocadherin- $\alpha$  leads to aggregated retinogeniculate terminals and impaired visual acuity in mice. *J Neurochem*. 2015, 133, 66-72.
19. Kitsukawa T, Yagi T. The transfer and transformation of collective network information in gene-matched networks. *Sci Rep*. 2015, 5, 14984.
20. Watanabe T, Sasaki M, Komagata S, Tsukano H, Hishida R, Kohno T, Baba H, Shibuki K. Spinal mechanisms underlying potentiation of hind paw responses observed after transient hind paw ischemia in mice. *Sci Rep*. 2015, 5, 11191.
21. Yagi T. Role of the Clustered protocadherins in promoting neuronal diversity and function. *Neural Surface Antigens Elsevier*. 2015, 141-152.
22. 八木健. クラスター型プロトカドヘリン複雑なニューラルネットワークへの挑戦. *実験医学*. 2015, 33, 492-498.

23. Tsukano H, Horie M, Hishida R, Takahashi K, Takebayashi H, Shibuki K. Quantitative map of multiple auditory cortical regions with a stereotaxic fine-scale atlas of the mouse brain. *Sci Rep*. 2016, 6, 22315.
24. Baba H, Tsukano H, Hishida R, Takahashi K, Horii A, Takahashi S, Shibuki K. Auditory cortical field coding long-lasting tonal offsets in mice. *Sci Rep*. 2016, 6, 34421.
25. Tarusawa E, Sanbo M, Okayama A, Miyashita T, Kitsukawa T, Hirayama T, Hirabayashi T, Hasegawa S, Kaneko R, Toyoda S, Kobayashi T, Kato-Itoh M, Nakauchi H, Hirabayashi M, Yagi T, Yoshimura Y. Establishment of high reciprocal connectivity between clonal cortical neurons is regulated by the Dnmt3b DNA methyltransferase and clustered protocadherins. *BMC Biol*. 2016, 14(1), 103.
26. Hasegawa S, Kumagai M, Hagiwara M, Nishimaru H, Hirano K, Kaneko R, Okayama A, Hirayama T, Sanbo M, Hirabayashi M, Watanabe M, Hirabayashi T, Yagi T. Distinct and cooperative functions for the protocadherin- $\alpha$ , - $\beta$  and - $\gamma$  clusters in neuronal survival and axon targeting. *Front Mol Neurosci*. 2016, 6, 155.
27. 足澤悦子, 吉村由美子, 八木 健. 個々のニューロンの神経回路を支える遺伝子コードクラスター型プロトカドヘリン 生体の科学. 2017, 68, 48-53
28. 足澤悦子. クラスター型プロトカドヘリンの本領発揮なるか 複雑ニューラルネットワークの結合ルール解明に向けて. *実験医学*. 2017, 35, 956-957
29. Hasegawa S, Kobayashi H, Kumagai M, Nishimaru H, Tarusawa E, Kanda H, Kaneko R, Sanbo M, Yoshimura Y, Hirabayashi M, Hirabayashi T, Yagi T. Clustered protocadherins are required for building functional neural circuits. *Front Mol Neurosci*. 2017, 10, 114.
30. Hirayama T, Yagi T. Regulation of clustered protocadherin genes in individual neurons. *Semin Cell Dev Biol*, 2017, S1084-9521(17)30254-9.
31. Jiang Y, Loh E, Rajarajan P, Hirayama T, Liao W, Kassim B, Javidfar B, Hartley BJ, Kleofas L, Park R, Labonte B, Ho SM, Chandrasekaran S, Do C, Ramirez B, Peter C, TCW J, Safaie B, Morishita H, Roussos P, Nestler EJ, Schaefer A, Tycko B, Brennand KJ, Yagi T, Shen L, Abkarian S. Kmt1e uniquely regulates a large neuron-specific topological chromatin domain. *Nat Genet*, in press.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Promoter DNA methylation before the onset of neurogenesis is dependent on cluster structure, and regulates allocation of isoforms gene expression in each protocadherin cluster, ポスター, Toyoda S, Kawaguchi M, Toyama T, Okano M, Oda M, Hirabayashi T, Yagi T. Society for Neuroscience, Annual Meeting 2011, 2011/11/12-16, 国外.

2. Loss of function analysis in mice for all protocadherin clusters, ポスター, Inoue Y, Okayama A, Toyoda S, Hirayama T, Hirabayashi T, Yagi T. Society for Neuroscience, Annual Meeting 2011, 2011/11/12-16, 国外.
3. Loss of function analysis in mice for all protocadherin clusters, ポスター, Yagi T, Okayama A, Inoue Y, Toyoda S, Hirayama T and Hirabayashi T. 第 34 回日本分子生物学会, 2011/12/13-16, 国内.
4. Gene regulation of the cluster protocadherin and its disruption, ポスター, Hirayama T, Hirabayashi M, Hirano K, Kaneko R, Toyoda S, Kawamura Y, Hirabayashi T, Tarusawa E, Galjart N, Yoshimura Y, Yagi T. 第 34 回日本分子生物学会, 2011/12/13-16, 国内.
5. Gene regulatory changes in protocadherin-a cluster by gene duplication, ポスター, Kaneko R, Abe M, Hirabayashi T, Uchimura A, Sakimura K, Yanagawa Y, Yagi T. 第 34 回日本分子生物学会, 2011/12/13-16, 国内.
6. Promoter DNA methylation is depend on gene cluster structure and regulates allocation of isoforms expression in each protocadherin cluster, ポスター, Toyoda S, Kawaguchi M, Toyama T, Okano M, Oda M, Hirabayashi T, Yagi T. 第 34 回日本分子生物学会, 2011/12/13-16, 国内.
7. Loss of function analysis in mice for all protocadherin clusters, 口頭, Yagi T, Okayama A, Inoue Y, Toyoda S, Hirayama T, Hirabayashi T. 第 34 回日本分子生物学会, 2011/12/13-16, 国内.
8. Gene regulation of the cluster protocadherin and its disruption, 口頭, Hirayama T, Hirabayashi M, Hirano K, Kaneko R, Toyoda S, Kawamura Y, Hirabayashi T, Tarusawa E, Galjart N, Yoshimura Y, Yagi T. 第 34 回日本分子生物学会, 2011/12/13-16, 国内.
9. Gene regulatory changes in protocadherin-a cluster by gene duplication, 口頭, Kaneko R, Abe M, Hirabayashi T, Uchimura A, Sakimura K, Yanagawa Y, Yagi T. 第 34 回日本分子生物学会, 2011/12/13-16, 国内.
10. Promoter DNA methylation is depend on gene cluster structure and regulates allocation of isoforms expression in each protocadherin cluster, 口頭, Toyoda S, Kawaguchi M, Toyama T, Okano M, Oda M, Hirabayashi T, Yagi T. 第 34 回日本分子生物学会, 2011/12/13-16, 国内.
11. Neuronal diversity by clustered protocadherin genes, 招待講演, Yagi T. Celebrating the 22<sup>nd</sup> Anniversary of Odorant-Receptor Gene Discovery, 2012/1/9-10, 国外.
12. 神経細胞の個性をもたらす分子メカニズムと複雑ネットワーク, 口頭, 八木健. 生理学研究所研究会「シナプス可塑性の動作原理～分子から行動まで～」, 2012/6/14-15, 国内.

13. 神経細胞の個性を生み出す分子メカニズム, 口頭, 八木健. 新学術領域研究「大脳新皮質構築」「メゾ神経回路」合同ワークショップ, 2012/7/24, 国内.
14. Analysis of function of protocadherin- $\beta$ , 章瑠依, 平野敬三, 八木健. ポスター, 第 35 回日本神経科学大会, 2012/9/18-21, 国内.
15. プロトカドヘリン  $\alpha$  欠損マウスにおける外側膝状体背側核の網膜由来神経終末の形態異常, ポスター, 目黒玲子, 任海学, 塚野浩明, 平林敬浩, 竹林浩秀, 八木健, 澁木克栄. 第 35 回日本神経科学大会, 2012/9/18-21, 国内.
16. クラスター構造依存的なプロモーターDNA メチル化はプロトカドヘリン遺伝子クラスター内のアイソフォーム発現の分配を制御する, 口頭, Toyoda S, Kawaguchi M, Toyama T, Okano M, Oda M, Kobayashi T, Hirayama T, Hirabayashi T, Yagi T. 第 35 回日本神経科学大会, 2012/9/19-21, 国内.
17. 多様な接着分子の相互認識により形成される局所的神経回路モデル, 口頭, 木津川尚史. 八木健. 第 35 回日本神経科学大会, 2012/9/19-21, 国内.
18. Symposium inherent variability and information coding in biological systems stochastic expression of cell adhesion molecules in individual neurons, 口頭, 八木健. 第 50 回日本生物物理学会, 2012/9/22-24, 国内.
19. クラスター型プロトカドヘリンが大脳皮質の発達に与える影響, ポスター, 足澤悦子, 豊田峻輔, 小林俊寛, 三宝誠, 平林真澄, 八木健, 吉村由美子. 名大生理研合同シンポジウム, 2012./9/ 29, 国内.
20. Combinatorial matching network a hypothetical brain micro-circuit constructed by combinatorial recognition of neurons with diversified molecules, ポスター, Kitsukawa T. Society for Neuroscience Annual Meeting 2012, 2012/10/13-17, 国外.
21. Molecular mechanism for neuronal individuality, 招待講演, 八木健. リエゾンラボ研究会, 2012/11/21-22 国内.
22. CTCF is required for neural development and stochastic expression of clustered pcdh genes in neurons, ポスター, Hirayama T, Tarusawa E, Yoshimura Y, Galjart N, Yagi T. 第 35 回日本分子生物学会年会, 2012/12/11-14, 国内.
23. Role of the clustered protocadherin in specificity in neocortical synaptic connection. Circuit Construction in the Mammalian Brain, ポスター, Tarusawa E, Toyoda S, Kobayashi T, Sanbo M, Hirabayashi M, Yagi T, Yoshimura Y. 2012/12/15, 国内.



24. Molecular codes for neuronal individuality and cell assembly in the brain, ポスター, Yagi T. 遺伝研研究会 Circuit construction in the mammalian cerebral cortex: Genetic and imaging approaches, 2012/12/15-16, 国内.
25. クラスター型プロトカドヘリンの分子種特異的な細胞接着活性の解析, ポスター, 松下健一郎, 長谷川園子, 熊谷牧子, 平林敬浩, 八木健. 第 36 回日本分子生物学会年会, 2013/2/4-6, 国内.
26. Differential DNA methylation regulates stochastic expression of clustered protocadherin genes in single neurons, ポスター, Toyoda S. International Symposium on "Sensory Systems & Neural Circuits" Celebrating the 22nd Anniversary of Odorant-Receptor Gene Discovery, 2013/2/11-12, 国内.
27. Neuronal individuality by clustered protocadherins in the brain, 招待講演, Yagi T. International Symposium on "Sensory Systems & Neural Circuits" Celebrating the 22<sup>nd</sup> Anniversary of Odorant-Receptor Gene Discovery, 2013/2/11-12, 国内.
28. 神経細胞の個性をつくる分子メカニズム, 招待講演, 八木健, 九大セミナー, 2013/5/1, 国内.
29. CTCF による神経細胞の多様化と神経回路形成, ポスター, 平山晃斉. 第7回日本エピジェネティクス研究会年会, 2013/5/30-31, 国内.
30. 多様化分子群クラスター型プロトカドヘリン欠損マウスの機能解析, ポスター, 長谷川園子, 岡山厚, 松下健一郎, 平林敬浩, 八木健. 第 36 回日本神経科学大会, 2013/6.20-23, 国内.
31. 感覚連合依存的な視覚野抑圧におけるプロトカドヘリン多様性の役割, ポスター, 吉武講平, 塚野浩明, 任海学, 菱田竜一, 八木健, 澁木克栄. 第 36 回日本神経科学大会, 2013/6/20-23, 国内.
32. Dnmt3b 依存的な DNA メチル化は単一神経細胞におけるクラスター型プロトカドヘリン遺伝子群の確率的発現と樹状突起の自己忌避を制御する, ポスター, 豊田峻輔, 川口将史, 小林俊寛, 足澤悦子, 遠山知子, 岡野正樹, 小田昌朗, 中内啓光, 吉村由美子, 三宝誠, 平林真澄, 平山晃斉, 平林敬浩, 八木健. 第 36 回日本神経科学大会, 2013/6/20-23, 国内.
33. プロトカドヘリン  $\beta$  遺伝子改変マウスにおける発現制御メカニズムの解析, ポスター, 章瑠依, 平野敬三, 八木健. 第 36 回日本神経科学大会, 2013/6/20-23, 国内.
34. Dnmt3b epigenetically regulates specificity of synaptic connections in mouse barrel cortex, ポスター, Tarusawa E, Toyoda S, Kobayashi T, Sanbo M, Hirabayashi M, Yagi T, Yoshimura Y. Neuro2013, 2013/6/21, 国内.

35. Dnmt3b epigenetically regulates specificity of synaptic connections in mouse barrel cortex, ポスター, Tarusawa E, Toyoda S, Kobayashi T, Sanbo M, Hirabayashi M, Yagi T, Yoshimura Y. The sixth international neural microcircuit conference, 2013/ 6./25, 国内.
36. 神経細胞の個性をもたらす分子メカニズム, 口頭, 八木健. 熊本シンポジウム 2013, 2013/6./26, 国内.
37. 神経細胞の個性をつくるクラスター型プロトカドヘリン, 口頭, 八木健. 第 86 回日本生化学会シンポジウム, 2013/9/13, 国内.
38. CTCF is required for the refinement of somatosensory maps and stochastic expression of clustered pcdh genes in neurons, ポスター, Hirayama T, Tarusawa E, Yoshimura Y, Galjart N, Yagi T. EMBO Meeting 2013, 2013/9/21-24, 国外.
39. 意識の発生生物学, 口頭, 八木健. 秋の浅虫研究会ミニシンポ, 2013/10/19, 国内.
40. 自己とは何か? 定義をめぐる5つの省察, 招待講演, 八木健. 大阪大学医学部セミナー, 2013/10/23, 国内.
41. A brain micro-circuit model constructed by combinatorial connections of neurons, ポスター, Kitsukawa T. Society for Neuroscience, Annual Meeting 2013, 2013/11/9-13, 国外.
42. プルキンエ細胞特異的 CTCF 減少マウスの行動解析, ポスター, 角岡佑紀, 平山晃斉, 崎村建司, 八木健. 第 36 回日本分子生物学会年会, 2013/12/4-6, 国内.
43. Gene Matched Network, 招待講演, 八木健, 木津川尚史. 慶應大医学部システム医学教室セミナー, 2014/2/13, 国内.
44. Synaptic specificity depends on cell lineage and clustered protocadherin in mouse barrel cortex, ポスター, 足澤悦子, 豊田峻輔, 小林俊寛, 三宝誠, 平林真澄, 八木健, 吉村由美子. 新潟脳研-生理研合同シンポジウム, 2014/2/25, 国内.
45. Epigenetic regulation of lineage-dependent synaptic specificity in neocortex, ポスター, Tarusawa E, Toyoda S, Kobayashi T, Sanbo M, Hirabayashi M, Yagi T, Yoshimura Y. NIPS-KU/YU symposium, 2014/7/1, 国内.
46. Developmental epigenetic modification regulates stochastic expression of clustered protocadherin genes, generating single neuron diversity, ポスター, Toyoda S, Yagi T. FENS2014, 2014/7/5-9, 国外.
47. Developmental epigenetic modification regulates stochastic expression of clustered protocadherin genes generating single neuron diversity, ポスター, Toyoda S, Yagi T. FENS2014, 2014/7/9, 国外.

48. 神経細胞の個性を決める分子機構, 招待講演, 八木健. 第 44 回(2014)新潟神経学夏期セミナー, 2014/8/1, 国内.
49. セル・アセンブリー(細胞集成体)をもたらす分子メカニズム, 招待講演, 八木健. 最先端脳科学セミナー, 2014/8/29, 国内.
50. CTCF は抑制性神経細胞の発生、発達、移動に重要な因子である, ポスター, 谷垣宏美, 平山晃斉, 吉武講平, 木津川尚史, Niels Galjart, 澁木克栄, 八木健. 第 37 回日本神経科学大会, 2014/9/10-13, 国内.
51. Gene-matched network: A micro-circuit model constructed by combinatorial matching of neuronal diverse attributes, ポスター, Kitsukawa T, Yagi T. Society for Neuroscience 2014, 2014/11/15, 国外.
52. Complex neural networks from neuronal individuality, 招待講演, Yagi T. Special Seminar, 2014/11/21, 国外.
53. Epigenetically regulated reciprocal connectivity between clonal cortical neurons, ポスター, 足澤悦子, 豊田峻輔, 小林俊寛, 三宝誠, 平林真澄, 八木健, 吉村由美子. 名大生理研合同シンポジウム, 2014/11/22, 国内.
54. Epigenetically regulated reciprocal connectivity between clonal cortical neurons, 口頭, 足澤悦子, 豊田峻輔, 小林俊寛, 三宝誠, 平林真澄, 八木健, 吉村由美子. シナプス研究会, 2014/12/3, 国内.
55. Epigenetically regulated reciprocal connectivity between clonal cortical neurons, ポスター, 足澤悦子, 豊田峻輔, 小林俊寛, 三宝誠, 平林真澄, 八木健, 吉村由美子. 包括脳冬のシンポジウム, 2014/12/12, 国内.
56. クラスター型プロトカドヘリン複雑なニューラルネットワークへの挑戦, 招待講演, 八木健. 第 2 回包括的神経グリア研究会, 2015/1/10-11, 国内.
57. Epigenetically regulated reciprocal connectivity between clonal cortical neurons, 口頭, 足澤悦子, 三宝誠, 豊田峻輔, 小林俊寛, 平林敬浩, 平林真澄, 八木健, 吉村由美子. 包括的神経グリア研究会, 2015/1/10-11, 国内.
58. CRISPR/Cas9 システムを用いた遺伝子改変マウスの作製, ポスター, 三宝誠. 第 37 回生理学技術研究会, 2015/2/19, 国内.
59. 遺伝子と情報—Gene matched networks とコミュニティ解析への応用, 招待講演, 八木健, 木津川尚史. 保育・教育分野における人間行動ビッグデータ活用の方向性を探る公開研究会, 2015/2/28-3/1, 国内.

60. 複雑なニューラルネットワーク形成のメカニズム クラスター型プロトカドヘリンによる神経細胞の個性化, 招待講演, 八木健. 自然科学研究機構プロジェクト合同シンポジウム, 2015/3/11, 国内.
61. Visual object recognition based on short-term memory in mice, 招待講演, Shibuki K. 日本生理学大会シンポジウム, 2015/3/22, 国内.
62. ニューロンの個性がつくる複雑なニューラルネットワーク, 招待講演, 八木健. 第5回 CiNet シンポジウム/COI シンポジウム, 2015/6/17, 国内.
63. Genetic bases for generating the complex neural networks in the brain, 招待講演, 八木健. 第6回新潟大学共同研究拠点国際シンポジウム, 2015/7/25, 国内.
64. Bottom-up approach to visual awareness in mice, 招待講演, Shibuki K. 第6回新潟大学共同研究拠点国際シンポジウム, 2015/7/25, 国内.
65. High reciprocal connectivity between clonal cortical neurons is based on epigenetic regulation, 口頭, 足澤悦子, 三宝誠, 豊田峻輔, 小林俊寛, 平林敬浩, 平林真澄, 八木健, 吉村由美子. 日本神経科学大会, 2015/7/28, 国内.
66. 局所回路モデル Gene-matched network を利用したネットワーク情報の解析, ポスター, 木津川尚史, 八木健. 第38回日本神経科学大会, 2015/7/28-31, 国内.
67. 空間/形状情報の視覚的短期記憶課題におけるプロトカドヘリン多様性減少マウスの障害, ポスター, 鎌谷大樹, 渡邊健児, 山岸達矢, 菱田竜一, 八木健, 澁木克栄. 第38回日本神経科学大会, 2015/7/28-31, 国内.
68. クラスター型プロトカドヘリンは脳幹における神経細胞の生存に必要である, ポスター, 長谷川園子, 岡山厚, 平林敬浩, 神田尋, 足澤悦子, 三宝誠, 八木健. 第38回日本神経科学大会, 2015/7/28-31, 国内.
69. マウス後部頭頂連合野の予測誤差応答は経験によって形成される, ポスター, 吉武講平, 塚野浩明, 菱田竜一, 八木健, 澁木克栄. 第38回日本神経科学大会, 2015/7/28-31, 国内.
70. 細胞系譜依存的な双方向性シナプス結合形成は、胎生期におけるエピジェネティックな遺伝子発現制御の影響を受ける, ポスター, 足澤悦子, 三宝誠, 平林敬浩, 長谷川園子, 金子涼輔, 豊田峻輔, 小林俊寛, 平林真澄, 八木健, 吉村由美子. 第38回日本神経科学大会, 2015/7/28-31, 国内.
71. Visualizing single-neuron identity defined by Pcdh-beta cluster in mouse brain, ポスター, 金子涼輔, 阿部学, 渡辺雅彦, 崎村建司, 柳川右千夫, 八木健. 第58回日本神経化学会大会, 2015/9/13, 国内.

72. Complex neural networks from neuronal individuality, 招待講演, 八木健. 医学・生命科学セミナー, 2015/9/16, 国内.
73. マウス変異蓄積統計を利用した生殖系列の突然変異率の推定, 招待講演, 内村有邦, 樋口真弓, 新見恵理, 水口洋平, 豊田敦, 藤山秋佐夫, 西野穰, 八木健. 日本遺伝学会第 87 回大会, 2015/9/24-25, 国内.
74. 複雑なニューラルネットワークを形成する分子メカニズム, 招待講演, 八木健. 比較記憶研究会, 2015/10/8-9, 国内.
75. Epigenetic regulation of lineage-dependent synaptic connectivity in the barrel cortex, ポスター, Tarusawa E, Sanbo M, Toyoda S, Kobayashi T, Hirabayashi T, Hirabayashi M, Yagi T, Yoshimura Y. 5th NIPS-CIN Joint Symposium, 2015/11/5, 国内.
76. Genetic cords for complex neural networks in the brain, 招待講演, 八木健. RIKEN Kobe の動物実験従事者定期研修会, 2015/11/19, 国内.
77. クラスター型プロトカドヘリン欠損マウスにおける神経細胞死の解析, ポスター, 竹本健二, 長谷川園子, 井之上幸範, 平林敬浩, 八木健. 第 38 回日本分子生物学会年会第 88 回日本生化学会大会合同大会, 2015/12/1-4, 国内.
78. プルキンエ細胞における CTCF 欠損は樹状突起に Giant Lamellar Body の形成を即す, ポスター, 角岡佑紀, 平山晃斉, 中山寿子, 足澤悦子, 崎村建司, Niels Galjart, 吉村由美子, 橋本浩一, 八木健. 第 38 回日本分子生物学会年会第 88 回日本生化学会大会合同大会, 2015/12/1-4, 国内.
79. CTCF 欠失は脳皮質抑制性神経細胞の分布と神経活動に影響を及ぼす, ポスター, 有賀理瑛, 谷垣宏美, 平山晃斉, 吉武講平, 足澤悦子, Niels Galjart, 吉村由美子, 澁木克栄, 八木健. 第 38 回日本分子生物学会年会第 88 回日本生化学会大会合同大会, 2015/12/1-4, 国内.
80. 脳皮質神経幹細胞における DNA 結合因子 CTCF の役割, ポスター, 平山晃斉, Niels Galjart, 八木健. 第 38 回日本分子生物学会年会第 88 回日本生化学会大会合同大会, 2015/12/1-4, 国内.
81. ニューロン ID の可視化クラスター型プロトカドヘリンの発現解析, ポスター, 金子涼輔, 阿部学, 高鶴裕介, De Zeeuw Chris, 渡辺雅彦, 崎村建司, 柳川右千夫, 八木健. 第 38 回日本分子生物学会年会第 88 回日本生化学会大会合同大会, 2015/12/1-4, 国内.
82. Epigenetic regulation of lineage-dependent synaptic connectivity in the barrel cortex, ポスター, 足澤悦子, 三宝誠, 豊田峻輔, 小林俊寛, 平林敬浩, 平林真澄, 八木健, 吉村由美子. シナプス研究会, 2015/12/2, 国内.

83. Genetic codes for complex neural networks in the brain, 招待講演, Yagi T. Circuit Construction in the Mammalian Brain, 2015/12/6-7, 国内.
84. Epigenetic regulation of lineage-dependent synaptic connectivity in the barrel cortex, ポスター, Tarusawa E, Sanbo M, Toyoda S, Kobayashi T, Hirabayashi T, Hirabayashi M, Yagi T, Yoshimura Y. Circuit Construction in the Mammalian Brain, 2015/12/6, 国内.
85. Gene codes for generating the complex neural system in the brain, 招待講演, Yagi T. FBI Translational Seminar Series, 2016/6/16, 国外.
86. Gene codes for generating the complex neural networks in the brain, 招待講演, Yagi T. 第 39 回日本神経科学大会, 2016/7/20-22, 国内.
87. Neural correlates of visual awareness organized by short-term memory in mice, 招待講演, Shibuki K. 第 39 回日本神経科学大会, 2016/7/20-22, 国内.
88. DNA polymerase  $\beta$  function in neural progenitors is required for postmitotic neuronal survival and differentiation in the developing cortex, ポスター, Ohnishi K, Sugo N, Toyoda S, Hirayama T, Yagi T, Yamamoto N. 第 39 回日本神経科学大会, 2016/7/20-22, 国内.
89. Involvement of DNA polymerase  $\beta$  in postnatal development of cortical neurons, ポスター, Uyeda A, Sugo N, Ohnishi K, Toyoda S, Hirayama T, Yagi T, Yamamoto N. 第 39 回日本神経科学大会, 2016/7/20-22, 国内.
90. Visualizing single-neuron identity specified by pcdh-b cluster, ポスター, Kaneko R, Abe M, Takatsuru Y, Watanabe M, Sakimura K, Yanagawa Y, Yagi T. 第 39 回日本神経科学大会, 2016/7/20-22, 国内.
91. Higher cortical functions required for sound-shape associative learning in mice, ポスター, Ogi M, Yamagishi T, Tsukano H, Kamatani D, Hishida R, Horii A, Yagi T, Shibuki K. 第 39 回日本神経科学大会, 2016/7/20-22, 国内.
92. Impaired prediction error responses in the posterior parietal cortex of mice with reduced diversity of protocadherin- $\alpha$ , ポスター, Yoshitake K, Tsukano H, Hisida R, Yagi T, Shibuki K. 第 39 回日本神経科学大会, 2016/7/20-22, 国内.
93. Gene codes for generating the complex neural networks in the brain, 招待講演, Yagi T. サテライトシンポジウム, 2016/7/25-26, 国内.
94. プロトカドヘリン  $\gamma$  は大脳皮質抑制性神経細胞の分布及び機能を制御する, ポスター, 有賀理瑛, 平山晃斉, 吉武講平, 足澤悦子, 吉村由美子, 澁木克栄, 八木健. 第 38 回日本生物学的精神医学会 第 59 回日本神経化学会大会合同大会, 2016/9/8-10, 国内.

95. 脳における複雑なニューラルネットワーク形成メカニズム, 招待講演, 八木健. 行動遺伝学研究会, 2016/10/13, 国内.
96. Protocadherin clusters require neural wiring in reticular formation in spinal cord and brainstem, ポスター, Yagi T, Hasegawa S, Okayama A, Kaneko R, Hirayama T, Kumagai M, Hirabayashi T. Society of Neuroscience, 2016/11/13, 国外.
97. Prediction error responses in the mouse posterior parietal cortex are dependent on molecular diversity of clustered protocadherin  $\alpha$ , ポスター, Yoshitaka K, Tsukano H, Hishida R, Yagi T, Shibuki K. Society of Neuroscience, 2016/11/15, 国外.
98. Functional footprints of impaired consciousness in mice with reduced molecular diversity of clustered protocadherin- $\alpha$ , ポスター, Shibuki K, Yamagishi T, Kamatani D, Yoshitake K, Tsukano H, Watanabe K, Hishida R, Takahashi K, Takahashi S, Horii A, Yagi T. Society of Neuroscience, 2016/11/15, 国外.
99. High reciprocal connectivity between clonal cortical neurons is established under the guidance of epigenetic regulation, ポスター, Tarusawa E, Sanbo M, Okayama A, Miyashita T, Kitsukawa T, Hirayama T, Hirabayashi T, Hasegawa S, Hirabayashi M, Yagi T, Yoshimura Y. Society of Neuroscience, 2016/11/16, 国外.
100. Gene codes for generating the complex neural networks in the brain-neural individuality and network formation by clustered protocadherins, 招待講演, Yagi T. Cell & Molecular Biology Graduate Program, 2016/11/18, 国外.
101. 神経細胞の個性がつくる神経回路とセルアセンブリ, 招待講演, 八木健. 「脳神経回路の形成・動作原理の解明と制御技術の創出」研究領域最終公開シンポジウム 脳神経回路研究の最前線 2017, 2017/1/20, 国内.
102. Influence of the postnatal experience on the cortical neural connections predetermined by the gene-regulation during the embryonic stage, 口頭, 足澤悦子. 第10回神経発生討論会, 2017/3/11, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 脳と遺伝子、八木 健、静岡県立韮山高等学校、2012/3/16, 国内.
2. フラビン蛋白蛍光イメージング上の実技実習、澁木克栄、新潟大学脳研究所, 2012/8/6-8, 国内.
3. 脳と遺伝子、八木 健、静岡県立韮山高等学校、2013/3/14, 国内.
4. フラビン蛋白蛍光イメージング上の実技実習、澁木克栄、新潟大学脳研究所, 2013/7/23-25, 国内.

5. 脳研究について、八木 健、静岡県立韮山高等学校、2014/3/14, 国内.
6. フラビン蛋白蛍光イメージング上の実技実習、澁木克栄、新潟大学脳研究所、2014/7/29-31, 国内.
7. 生物学で心を捉える、八木 健、静岡県立韮山高等学校、2015/3/16, 国内.
8. フラビン蛋白蛍光イメージング上の実技実習、澁木克栄、新潟大学脳研究所、2015/7/28-30, 国内.
9. 生物学で心を捉える、八木 健、静岡県立韮山高等学校、2016/3/8, 国内.
10. 研究成果の授業、澁木克栄、新潟県立新発田高校、2016/8/24, 国内.
11. フラビン蛋白蛍光イメージング上の実技実習、澁木克栄、新潟大学脳研究所、2012/8/6-8, 国内.
12. 生物学で心を捉える、八木 健、静岡県立韮山高等学校、2017/3/13, 国内.

#### (4) 特許出願

発明の名称：特徴抽出装置、特徴抽出方法、及び、そのプログラム

FEATURE EXTRACTION DEVICE, FEATURE EXTRACTION METHOD AND PROGRAM FOR SAME

発明者：八木 健、木津川 尚史

出願人：国立大学法人大阪大学

出願日：2011/10/18 移行日：2013/04/18

出願番号：PCT/JP2011/005807

出願国：アメリカ合衆国



平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

## I. 基本情報

事業名：(日本語) 革新的先端研究開発支援事業 ユニットタイプ「脳神経回路の形成・動作原理の解明と制御技術の創出」研究領域

(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation (AMED-CREST) Elucidation of the Principles of Formation and Function of the Brain Neural Network and Creation of Control Technologies

研究開発課題名：(日本語) 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

(英語) Analysis of higher sensory cortices using flavoprotein fluorescence imaging and 2 photon microscopy

研究開発担当者 (日本語) 新潟大学 脳研究所 教授 澁木克栄

所属 役職 氏名：(英語) Brain Research Institute, Niigata University, Professor, Katsuei Shibuki

実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語)

開発課題名：(英語)

研究開発分担者 (日本語)

所属 役職 氏名：(英語)

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

・ 研究開発代表者による報告の場合

・ 研究開発分担者による報告の場合

研究開発代表者：新潟大学・脳研究所・澁木 克栄 総括研究報告を参照。

これまでの研究で、クラスター型プロトカドヘリン  $\alpha$  の分子多様性が減少したマウスの解析を行い、ヒゲ感覚と視覚との統合機能障害、空間情報の視覚的短期記憶障害、図形情報の視覚的短期記憶障害、聴覚と視覚の統合機能障害の4種類の表現型を見出した。クラスター型プロトカドヘリン  $\alpha$  は大脳皮質全般に渡って広範

困に分布するため、様々な感覚情報の統合機能障害と短期記憶障害が生じていることが推測される。

短期記憶の障害については、以下のように考えている。現在短期記憶のメカニズムとして、シナプスの短期増強が想定されている。しかしシナプス増強を短期記憶に変換するためにはシナプスに蓄えられた情報を神経活動に変換する読み出し回路が必要である。この読み出し回路は情報が発散しない疎らな回路であることを必要とし、疎らな回路の形成に、クラスター型プロトカドヘリン  $\alpha$  の分子多様性が必要とされると思われる。

感覚情報の統合機能障害については、以下のように考えている。情報統合の一つのメカニズムとして、ヘッブのダイナミックセルアセンブリ仮説が提唱されている。しかしダイナミックセルアセンブリが形成されるためには、各情報を表すニューロンが機能的閉回路を形成する必要性が在り、そのような閉回路が脳内に安定的に存在するとは考えられない。しかし、各情報を蓄える短期記憶回路をニューロンの代わりとして考えたダイナミックメモリアセンブリを想定すると、少なくとも短期記憶が安定的に存在する時間は、脳内にダイナミックメモリアセンブリが存在しうるであろう。ダイナミックメモリアセンブリの重要な要素がクラスター型プロトカドヘリン  $\alpha$  の分子多様性に依存する短期記憶である以上、感覚情報の統合機能もまたクラスター型プロトカドヘリン  $\alpha$  の分子多様性に依存すると考えられる。

We have investigated cPcdh $\alpha$ 1,12 mice, in which the number of variable isoforms of clustered protocadherin  $\alpha$  is reduced from twelve to two. In cPcdh $\alpha$ 1,12 mice, we found abnormalities in two types of visual short-term memory and two types of higher functions that depend on sensory integration. Therefore, it is expected that the molecular diversity of cPcdhs may be required for higher cognitive function including short-term memory and sensory integration that depend on sparse circuit formation.

Regarding the impairment in short-term memory, the underlying mechanisms may be as followings: Synaptic short-term potentiation is one of mechanisms for short-term memory. In order to convert synapse potentiation to short-term memory, read-out circuits converting synaptic information to neuronal activity are necessary. The read-out circuits need to be sparse circuits in which information do not diverge. Therefore, the molecular diversity of clustered protocadherin  $\alpha$  is required in the formation of such sparse read-out circuits.

Regarding the impairment in sensory integration, the underlying mechanisms may be as followings: Neural mechanisms underlying sensory integration are largely unknown. One possible mechanism is formation of a dynamic cell assembly, proposed by D. O. Hebb in 1949. In order to form a dynamic cell assembly, neurons representing each piece of information need to form a functionally closed circuit. But it is unlikely that such a closed circuit stably exists in the brain. Instead, we can assume the formation of a dynamic memory assembly in which neurons representing each piece of information are substituted with short-term memory circuits storing each piece of information. A dynamic memory assembly may stably be present in the brain as long as the short-term memory components are stable. Since short-term memory depends on the molecular diversity of cluster type protocadherin  $\alpha$ , sensory integration must also depend on the molecular diversity of clustered protocadherin  $\alpha$ .

研究開発代表者：大阪大学・生命機能研究科・八木 健 総括研究報告を参照。

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 6 件）

1. Yamashita H, Chen S, Komagata S, Hishida R, Iwasato T, Itohara S, Yagi T, Endo N, Shibata M, Shibuki K. Restoration of contralateral representation in the mouse somatosensory cortex after crossing nerve transfer. PLoS ONE. 2012, 7, e35676.
2. Honma Y, Tsukano H, Horie M, Ohshima S, Tohmi M, Kubota Y, Takahashi K, Hishida R, Takahashi S, Shibuki K. Auditory cortical areas activated by slow frequency-modulated sounds in mice. PLoS ONE. 2013, 8, e68113.
3. Yoshitake K, Tsukano H, Tohmi M, Komagata S, Hishida R, Yagi T, Shibuki K. Visual map shifts based on whisker-guided cues in the young mouse visual cortex. Cell Rep. 2013, 5, 1365-1374.
4. Meguro R, Hishida R, Tsukano H, Yoshitake K, Imamura R, Tohmi M, Kitsukawa T, Hirabayashi T, Yagi T, Takebayashi H, Shibuki K. Impaired clustered protocadherin- $\alpha$  leads to aggregated retinogeniculate terminals and impaired visual acuity in mice. J Neurochem. 2015, 133, 66-72.
5. Tsukano H, Horie M, Hishida R, Takahashi K, Takebayashi H, Shibuki K. Quantitative map of multiple auditory cortical regions with a stereotaxic fine-scale atlas of the mouse brain. Sci Rep. 2016, 6, 22315.
6. Baba H, Tsukano H, Hishida R, Takahashi K, Horii A, Takahashi S, Shibuki K. Auditory cortical field coding long-lasting tonal offsets in mice. Sci Rep. 2016, 6, 34421.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. プロトカドヘリン  $\alpha$  欠損マウスにおける外側膝状体背側核の網膜由来神経終末の形態異常, ポスター, 目黒玲子, 任海学, 塚野浩明, 平林敬浩, 竹林浩秀, 八木健, 澁木克栄. 第 35 回日本神経科学大会, 2012/9/18-21, 国内.
2. 感覚連合依存的な視覚野抑圧におけるプロトカドヘリン多様性の役割, ポスター, 吉武講平, 塚野浩明, 任海学, 菱田竜一, 八木健, 澁木克栄. 第 36 回日本神経科学大会, 2013/6/20-23, 国内.
3. Visual object recognition based on short-term memory in mice, 招待講演, Shibuki K. 日本生理学大会シンポジウム, 2015/3/22, 国内.
4. Bottom-up approach to visual awareness in mice, 招待講演, Shibuki K. 第6回新潟大学共同研究拠点国際シンポジウム, 2015/7/25, 国内.
5. 空間/形状情報の視覚的短期記憶課題におけるプロトカドヘリン多様性減少マウスの障害, ポスター, 鎌谷大樹, 渡邊健児, 山岸達矢, 菱田竜一, 八木健, 澁木克栄. 第 38 回日本神経科学大会, 2015/7/28-31, 国内.
6. マウス後部頭頂連合野の予測誤差応答は経験によって形成される, ポスター, 吉武講平, 塚野浩明, 菱田竜一, 八木健, 澁木克栄. 第 38 回日本神経科学大会, 2015/7/28-31, 国内.
7. CTCF 欠失は脳皮質抑制性神経細胞の分布と神経活動に影響を及ぼす, ポスター, 有賀理瑛, 谷垣宏美, 平山晃斉, 吉武講平, 足澤悦子, Niels Caljart, 吉村由美子, 澁木克栄, 八木健. 第 38 回日本分子生物学会年会第 88 回日本生化学会大会合同大会, 2015/12/1-4, 国内.

8. Neural correlates of visual awareness organized by short-term memory in mice, 招待講演, Shibuki K. 第39回日本神経科学大会, 2016/7/20-22, 国内.
9. Higher cortical functions required for sound-shape associative learning in mice, ポスター, Ogi M, Yamagishi T, Tsukano H, Kamatani D, Hishida R, Horii A, Yagi T, Shibuki K. 第39回日本神経科学大会, 2016/7/20-22, 国内.
10. Impaired prediction error responses in the posterior parietal cortex of mice with reduced diversity of protocadherin- $\alpha$ , ポスター, Yoshitake K, Tsukano H, Hisida R, Yagi T, Shibuki K. 第39回日本神経科学大会, 2016/7/20-22, 国内.
11. プロトカドヘリン  $\gamma$  は大脳皮質抑制性神経細胞の分布及び機能を制御する, ポスター, 有賀理瑛, 平山晃斉, 吉武講平, 足澤悦子, 吉村由美子, 澁木克栄, 八木健. 第38回日本生物学的精神医学会第59回日本神経化学会大会合同大会, 2016/9/8-10, 国内.
12. Prediction error responses in the mouse posterior parietal cortex are dependent on molecular diversity of clustered protocadherin  $\alpha$ , ポスター, Yoshitaka K, Tsukano H, Hishida R, Yagi T, Shibuki K. Society of Neuroscience, 2016/11/15, 国外.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. フラビン蛋白蛍光イメージング上の実技実習、澁木克栄、新潟大学脳研究所, 2012/8/6-8, 国内.
2. フラビン蛋白蛍光イメージング上の実技実習、澁木克栄、新潟大学脳研究所, 2013/7/23-25, 国内.
3. フラビン蛋白蛍光イメージング上の実技実習、澁木克栄、新潟大学脳研究所, 2014/7/29-31, 国内.
4. フラビン蛋白蛍光イメージング上の実技実習、澁木克栄、新潟大学脳研究所, 2015/7/28-30, 国内.
5. 新潟県立新発田高等学校出張講義「意識のしくみに迫る」、澁木克栄、新潟県立新発田高校、2016/8/24, 国内.
6. フラビン蛋白蛍光イメージング上の実技実習、澁木克栄、新潟大学脳研究所, 2012/8/6-8, 国内.

(4) 特許出願

なし

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

## I. 基本情報

事業名：(日本語) 革新的先端研究開発支援事業 ユニットタイプ「脳神経回路の形成・動作原理の解明と制御技術の創出」研究領域

(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation (AMED-CREST) Elucidation of the Principles of Formation and Function of the Brain Neural Network and Creation of Control Technologies

研究開発課題名：(日本語) 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

(英語) Analysis of neural network formation using iPS cells established from cPcdh gene-deleted mice

研究開発担当者 (日本語) 生理学研究所 准教授 平林 真澄

所属 役職 氏名：(英語) National Institute for Physiological Sciences, Associate Professor, Masumi Hirabayashi

実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語)

開発課題名：(英語)

研究開発分担者 (日本語)

所属 役職 氏名：(英語)

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

・ 研究開発代表者による報告の場合

・ 研究開発分担者による報告の場合

研究開発代表者：大阪大学大学院・生命機能研究科・八木健 総括研究報告を参照。

### III. 成果の外部への発表

#### (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 2件、国際誌 3件）

1. Hirayama T, Tarusawa E, Yoshimura Y, Galjart N, Yagi T. CTCF is required for neural development and stochastic expression of clustered Pcdh genes in neurons. *Cell Rep*. 2012, 2, 345-357.
2. 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. Developmental epigenetic modification regulates stochastic expression of clustered protocadherin genes, generating single neuron diversity. *Neuron*. 2014, 82, 94-108.
3. Tarusawa E, Sanbo M, Okayama A, Miyashita T, Kitsukawa T, Hirayama T, Hirabayashi T, Hasegawa S, Kaneko R, Toyoda S, Kobayashi T, Kato-Itoh M, Nakauchi H, Hirabayashi M, Yagi T, Yoshimura Y. Establishment of high reciprocal connectivity between clonal cortical neurons is regulated by the Dnmt3b DNA methyltransferase and clustered protocadherins. *BMC Biol*. 2016, 14(1), 103.
4. 足澤悦子, 吉村由美子, 八木 健. 個々のニューロンの神経回路を支える遺伝子コードクラスター型プロトカドヘリン 生体の科学. 2017, 68, 48-53
5. 足澤悦子. クラスター型プロトカドヘリンの本領発揮なるか 複雑ニューラルネットワークの結合ルール解明に向けて. *実験医学*. 2017, 35, 956-957

#### (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. クラスター型プロトカドヘリンが脳皮質の発達に与える影響, ポスター, 足澤悦子, 豊田峻輔, 小林俊寛, 三宝誠, 平林真澄, 八木健, 吉村由美子, 名大生理研合同シンポジウム, 2012/9/29, 国内.
2. Role of the clustered protocadherin in specificity in neocortical synaptic connection, ポスター, Tarusawa E, Toyoda S, Kobayashi T, Sanbo M, Hirabayashi M, Yagi T, Yoshimura Y, *Circuit Construction in the Mammalian Brain*, 2012/12/15, 国内.
3. Dnmt3b epigenetically regulates specificity of synaptic connections in mouse barrel cortex, ポスター, Tarusawa E, Toyoda S, Kobayashi T, Sanbo M, Hirabayashi M, Yagi T, Yoshimura Y, *Neuro2013*, 2013/6/21, 国内.
4. Dnmt3b epigenetically regulates specificity of synaptic connections in mouse barrel cortex, ポスター, Tarusawa E, Toyoda S, Kobayashi T, Sanbo M, Hirabayashi M, Yagi T, Yoshimura Y, *The sixth international neural microcircuit conference*, 2013/6/25, 国内.
5. Synaptic specificity depends on cell lineage and clustered protocadherin in mouse barrel cortex, ポスター, 足澤悦子, 豊田峻輔, 小林俊寛, 三宝誠, 平林真澄, 八木健, 吉村由美子, 新潟脳研-生理研合同シンポジウム, 2014/2/25, 国内.
6. Epigenetic regulation of lineage-dependent synaptic specificity in neocortex, ポスター, Tarusawa E, Toyoda S, Kobayashi T, Sanbo M, Hirabayashi M, Yagi T, Yoshimura Y, *NIPS-KU/YU symposium*, 2014/7/1, 国内.

7. Epigenetically regulated reciprocal connectivity between clonal cortical neurons, ポスター, 足澤悦子, 豊田峻輔, 小林俊寛, 三宝誠, 平林真澄, 八木健, 吉村由美子, 名大生理研合同シンポジウム, 2014/11/22, 国内.
8. Epigenetically regulated reciprocal connectivity between clonal cortical neurons, 口頭, 足澤悦子, 豊田峻輔, 小林俊寛, 三宝誠, 平林真澄, 八木健, 吉村由美子, シナプス研究会, 2014/12/3, 国内.
9. Epigenetically regulated reciprocal connectivity between clonal cortical neurons, ポスター, 足澤悦子, 豊田峻輔, 小林俊寛, 三宝誠, 平林真澄, 八木健, 吉村由美子, 包括脳冬のシンポジウム, 2014/12/12, 国内.
10. Epigenetically regulated reciprocal connectivity between clonal cortical neurons, 口頭, 足澤悦子, 三宝誠, 豊田峻輔, 小林俊寛, 平林敬浩, 平林真澄, 八木健, 吉村由美子, 包括的神経グリア研究会, 2015/1/10, 国内.
11. CRISPR/Cas9 システムを用いた遺伝子改変マウスの作製, ポスター, 三宝誠, 第 37 回生理学技術研究会, 2015/2/19, 国内.
12. High reciprocal connectivity between clonal cortical neurons is based on epigenetic regulation, 口頭, 足澤悦子, 三宝誠, 豊田峻輔, 小林俊寛, 平林敬浩, 平林真澄, 八木健, 吉村由美子, 日本神経科学大会, 2015/7/28, 国内.
13. Epigenetic regulation of lineage-dependent synaptic connectivity in the barrel cortex, ポスター, Tarusawa E, Sanbo M, Toyoda S, Kobayashi T, Hirabayashi T, Hirabayashi M, Yagi T, Yoshimura Y, 5th NIPS-CIN Joint Symposium, 2015/11/5, 国内.
14. Epigenetic regulation of lineage-dependent synaptic connectivity in the barrel cortex, ポスター, 足澤悦子, 三宝誠, 豊田峻輔, 小林俊寛, 平林敬浩, 平林真澄, 八木健, 吉村由美子, シナプス研究会, 2015/12/2, 国内.
15. Epigenetic regulation of lineage-dependent synaptic connectivity in the barrel cortex, ポスター, Tarusawa E, Sanbo M, Toyoda S, Kobayashi T, Hirabayashi T, Hirabayashi M, Yagi T, Yoshimura Y, Circuit Construction in the Mammalian Brain, 2015/12/6, 国内.
16. High reciprocal connectivity between clonal cortical neurons is established under the guidance of epigenetic regulation, ポスター, Tarusawa E, Sanbo M, Okayama A, Miyashita T, Kitsukawa T, Hirayama T, Hirabayashi T, Hasegawa S, Hirabayashi M, Yagi T, Yoshimura Y, Society of Neuroscience, 2016/11/16, 国外 (San Diego, USA).
17. Influence of the postnatal experience on the cortical neural connections predetermined by the gene-regulation during the embryonic stage. 口頭, 足澤悦子, 第 10 回神経発生討論会, 2017/3/11, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

なし

(4) 特許出願

なし