

大脳皮質介在ニューロン移動と成熟のライブイメージング

Live Imaging of Migration and Maturation of Cortical Interneurons

村上 富士夫

Fujio Murakami

大阪大学大学院生命機能研究科脳神経工学講座

要旨 大脳皮質はヒトの様々な高次機能の担い手である。大脳皮質は興奮性投射ニューロンと抑制性介在ニューロンから成るが、後者の占める割合は2割程度と低いものの極めて多様性に富んでおり、高次機能発現における役割の認識が高まっている。したがって、大脳皮質の成り立ちの理解にとって如何にして抑制性介在ニューロンが大脳皮質に組み込まれていくかを明らかにすることは極めて重要である。我々は抑制性ニューロン特異的に緑色蛍光蛋白 (GFP) を発現するマウス及び電気穿孔法で抑制性介在ニューロン特異的に遺伝子を導入することで皮質の抑制性ニューロンを標識し、その動態を追った。大脳基底核隆起で発生した抑制性ニューロンは脳の深部の中間帯・脳室下帯を接線方向に移動して皮質の背側部に辿り着いた後、辺縁帯で長期間に亙り酔歩用の動きを示した。これを乱すと抑制性ニューロンの脳内最終分布が変化することなどから、この動きは抑制性ニューロンが皮質に万遍なく広がるのに重要な役割を果たすものと考えられる。

キーワード：大脳皮質、細胞移動、子宮内電気穿孔、GFP

1. はじめに

大脳皮質はヒトの様々な高次機能の担い手である。大脳皮質によって担われる高次機能はそれを構成する興奮性投射ニューロンと抑制性のGABA作動性介在ニューロン（以下GABA作動性介在ニューロンと記す）によって形成される神経回路の働きに大きく依存する。これら2種のニューロンのうち特に後者についてはその占める割合は2割程度であるものの、形態的にも、電気生理学的にも、分子発現、そして脳内分布パターンにおいても極めて複雑で多様である^{1,2)}。介在ニューロンの多様性やそれによって形成される回路の複雑さは大脳皮質の多様な機能の発現にとって極めて重要と考えられるものの、GABA作動性ニューロンによって形成される局所回路は極めて複雑であるため、現在でもその機能の全容の解明には至っていない。GABA作動性ニューロン大脳基底核原基 (GE) に由来するが、その後接線方向への移動によって新皮質に到達する³⁻⁵⁾。このような移動は大脳の成り立ちにとって極めて重要な現象である。我々はそのような移動の詳細やそれがいかなるメカニズムで起こるのかについて研究を進めている。

2. GABA 作動性ニューロンの可視化

我々はこの細胞が抑制性神経伝達物質のガンマアミノ酪酸

(GABA) を発現していることを利用して GABA の合成酵素であるグルタミン酸脱炭酸酵素の遺伝子座に緑色の蛍光を発生する分子 GFP の遺伝子を組み込んだマウスを利用してまずその発生様式を観察するとともに動態の可視化を行った。冠状断切片での観察の結果、GFP 陽性細胞が次第に新皮質に進入し、拡がっていくことを確認することができた (図 1)。その次に、共焦点顕微鏡を用いてタイムラプス解析を行った。2-3 時間に亙る解析の結果、GFP によって標識された GABA 作動性ニューロンが皮質の中間帯並びに脳室下帯において背内側に向かって勢いよく移動している様子をとらえることができた⁶⁾。また、その移動速度と運動方向を定量した。その結果、中間帯と脳室下帯では接線方向への顕著な移動が観察された一方、辺縁帯や皮質板、サブプレートに分布する GABA 作動性ニューロンの多くはわずかな運動性しか示さなかった。さらにその移動の運動性や方向性は細胞によって実に多様であり、脳表面に対し垂直方向に移動する細胞や、接線方向ではあるが大部分の細胞とは逆に大脳基底核原基の方向へ戻るように移動する細胞もわずかながら観察された。また多くの細胞は、跳躍的な動態を示していた。これらの結果より、発生中の大脳皮質において GABA 作動性ニューロンはそれぞれの層で特異的な動態を示すことが明らかになった。これら特徴的な動態の大部分はこれまでに提唱されている移動制御メカニズムだけでは十分に説明できず、このことはそれぞれの層での特異的な運動を可能にする、新たな移動制御メカニズムが存在することを示唆している。

一方、我々の予想に反して表面近くの辺縁帯には多数の GFP 標識細胞が観察されたものの深部で見られたような動

〒565-0871 吹田市山田丘 1-3

TEL: 06-6879-4655

E-mail: murakami@fbs.osaka-u.ac.jp

2012年5月9日受付

きは観察されなかった。この結果から、この部分では細胞の動きが実際に起こっていない可能性も考えられるが、脳を薄い切片として観察したために、動きを捉えることができなかつた可能性も考えられた。そこで、切片の作成を行うことなく細胞の動きを観察する方法を開発した。その方法とはフラットマウント標本の作製である⁶⁾。胎仔期の皮質はその厚みがあまりないことに着目し、全体を切り取り、平面上に伸展させた。そして脳室帯側を下に、辺縁帯側を上になるように置き、表面から共焦点顕微鏡を用いて観察を行った。その結果、GFP 標識細胞が全方向に移動していることを確認することができた(図2)。すなわち、冠状切片の辺縁帯で動きを観察することができなかったのは、切片に垂直な方向に細胞が動くことができなかったのが大きな理由であったと考

えられる。また、細胞が全方向に移動しているのは細胞が発生部位から特定の部位に位置を変えるという移動の基本的概念に反するものであり、予想外の結果であった。

3. 全方向への移動

GABA 作動性ニューロンは接線方向に移動した後、辺縁帯に向かい、辺縁帯に到達した後は多方向に移動することが明らかになった⁶⁾。さらに live imaging によって辺縁帯を移動する GABA 作動性ニューロンの方向性の定量的解析を行ったところ、これらのニューロンは全ての方向に向かう移動を示すものの、その多くは物側または、尾側に向かって移動する傾向があることが明らかになった⁷⁾。辺縁帯での全方向への GABA ニューロンの移動は切片標本では観察することが

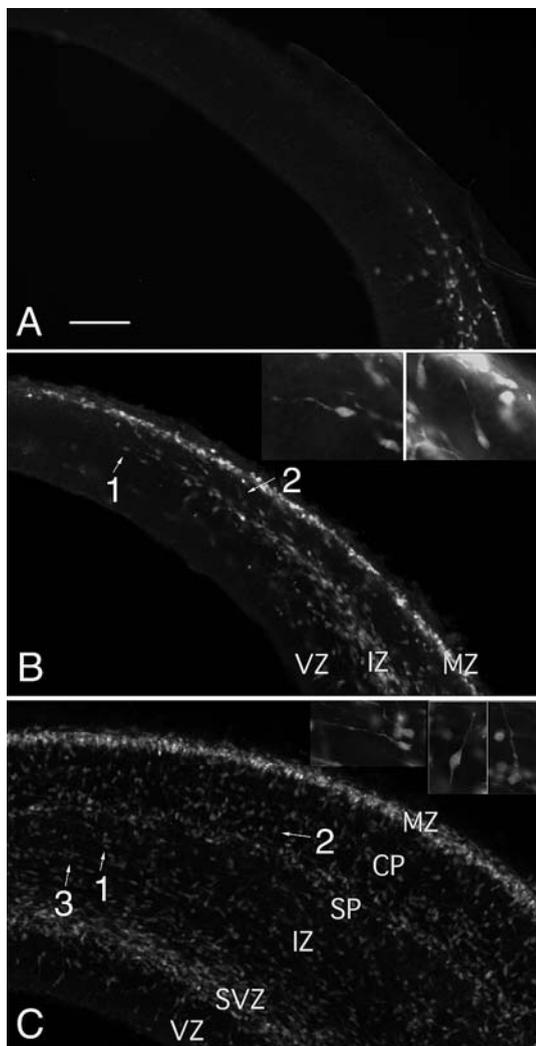


図1 GAD67-GFP マウスの大脳皮質における GABA 作動性介在ニューロンの分布。A は胎生 12 日目、B は 13.5 日目、C は 15.5 日目の冠状断切片。13.5 日目には中間帯 (IZ) と辺縁帯 (MZ) に細胞が分布しており、15.5 日目にはサブプレート (SP) や脳室下帯 (SVZ) にも分布が広がる様子がわかる。スケールバー: 100 μm (Tanaka et al., 2003 より)

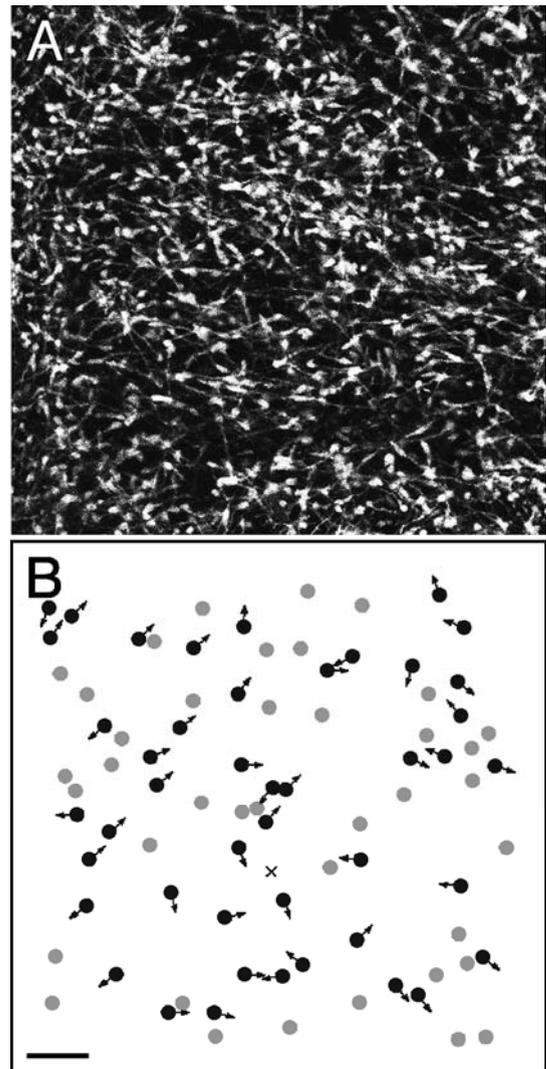


図2 GABA 作動性介在ニューロンの全方向への移動。A, GAD67-GFP マウスの大脳皮質辺縁帯において GABA 作動性介在ニューロンが全方向への移動する様子を示す図。大脳皮質を展開し表面 (辺縁帯側) から観察している。B, ニューロンの移動方向を示す図。黒丸についた矢印が移動方向を示す。灰色は 2 時間の観察時間中に動かなかった細胞を示す。スケールバー: 50 μm (Tanaka et al., 2003 より)

出来なかったが、皮質全体を展開して表面から観察を行うことにより、明らかにすることが出来た。このことは全方向への GABA ニューロンの移動は辺縁帯以外の層においても起こっている可能性を示唆している。技術的制約のため、表面から離れた部位の GABA ニューロンの（脳表面に平行な面での）移動の可視化は困難である。しかしながら、脳室帯のニューロンに関しては観察可能であると考え、我々は GAD67-GFP マウスを用い、上と同様に皮質を展開して、しかし上面と下面を反転させて脳室帯が上側になるように置いた標本を作製することによって脳室帯のニューロンの動態を可視化した。その結果、興味深いことに脳室帯のニューロンも脳室に平行な面において全方向へ向かって移動していることが明らかになった⁷⁾。また固定標本の観察結果から、サブプレートや皮質板でもそのような動きがあることが示唆された。これらの結果は新皮質の広い範囲で、多方向性の移動が起こっていることを示している。さらに興味深いことに、辺縁帯を接線方向に移動した GABA 作動性ニューロンは皮質版に向かって移動していくことが、明らかになった。元来細胞移動は特定の部位から別の特定の部位へと細胞がその位置を変えることを意味しており、我々の研究結果はこれまでの細胞移動の概念を変える必要のある新奇な発見である。その意義については明らかではないが、一つの可能性としては、皮質内での拡散である。

4. 長時間に亘る接線方向への移動による皮質内分散

GAD67-GFP マウスを用いた研究の限界は、細胞密度が高過ぎるために、長距離に亘る移動を追うことが困難であることである。そこで、母胎内のマウス胎仔の脳皮質に脂溶性のトレーサーである DiD をガラス電極で注入し、必要な生存期間の後に標識された細胞の分布の解析を試みた。その際 GABA 作動性ニューロンの同定のために GAD67-GFP マウスを用い、皮質において GFP の緑色の蛍光と DiD の赤色の蛍光によって 2 重標識された細胞のみを解析の対象とした。DiD の注入は胎生 15.5 日目に行い、1.5 日または 3 日後に胎仔の脳を固定して観察した。また注入部位は前頭葉、頭頂葉、後頭葉についてそれぞれ行ったが、その何れの場合も、注入後 3 日目には注入部位から 2 ミリ以上離れた脳表面の部位に標識ニューロンが観察された (図 3)⁷⁾。このことは辺縁帯に到達した GABA ニューロンは脳の表面で長距離に亘って移動することを意味している。また、GABA ニューロンが辺縁帯において数日間という極めて長期に亘って滞留する可能性が示唆される。

次にそのような移動方向の多様性がどのような要素によって規定されているかを明らかにするため、特定の部位に由来する GABA ニューロンの辺縁帯での動きの観察を試みた。皮質 GABA ニューロンの起源は一ヶ所ではなく、複数箇所であることが知られており、異なる起源のニューロンが異なる方向へ向かって移動する可能性が考えられた。そこで GABA ニューロンの起源の一つである medial ganglionic

eminence (MGE) 由来の GABA ニューロンを特異的に標識し、その移動の様子を辺縁帯で観察した。そのため、DsRed 遺伝子を子宮内電気穿孔法で胎仔の MGE に導入し、標識された細胞が皮質辺縁帯到達するまで数日間待った後、皮質を展開して live imaging を行った。その結果、GAD67-GFP マウスを用いた時と同様に全方向に向かう GABA 作動性ニューロンの（脳表面に平行な面での）移動が観察された (図 4)。このことは、起源を局限した場合でも GABA 作動性ニュー

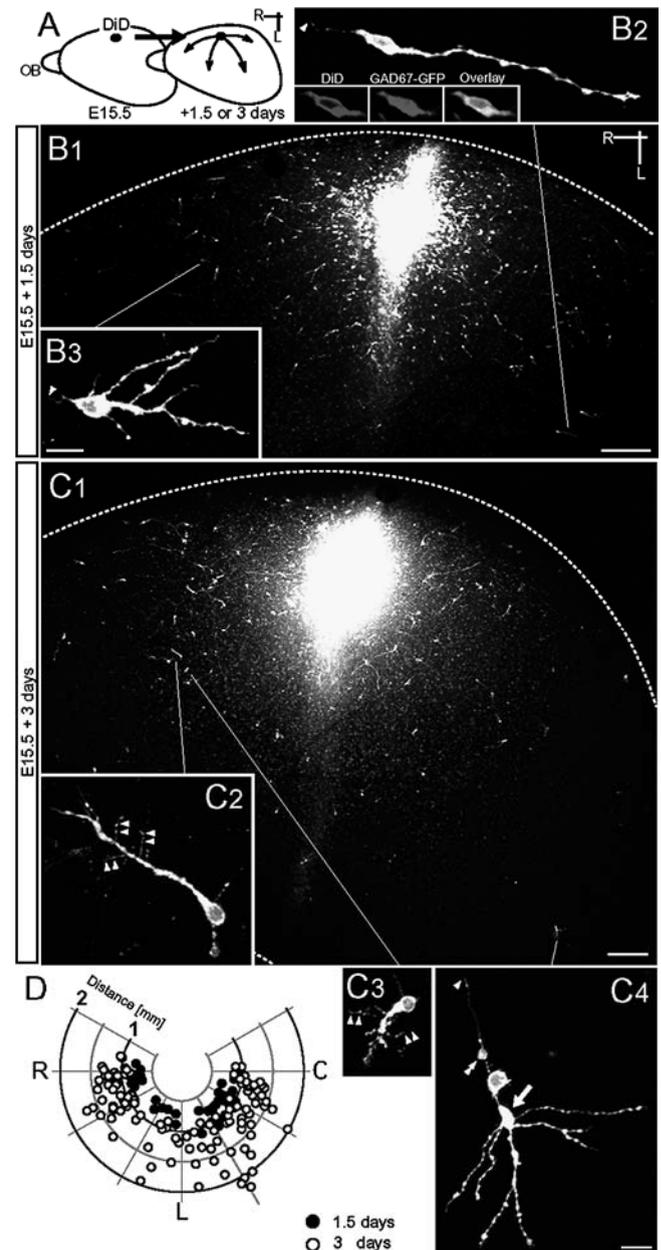


図3 辺縁層における GABA ニューロンの長距離に亘る移動。脂溶性色素 DiD を皮質に注入し、1.5 または 3 日後に脳を固定し、標識細胞の分布を観察した。B、C はそれぞれ 1.5 および 3 日後の細胞の分布を示す。B2–B3 の挿入図と C3、C4 は標識細胞の拡大図。D は標識細胞の注入部位からの距離の測定結果を示す。スケールバー：B1、C1、200 μm；B2、B3、10 μm；C2–C4、10 μm。(Tanaka et al., 2006 より)

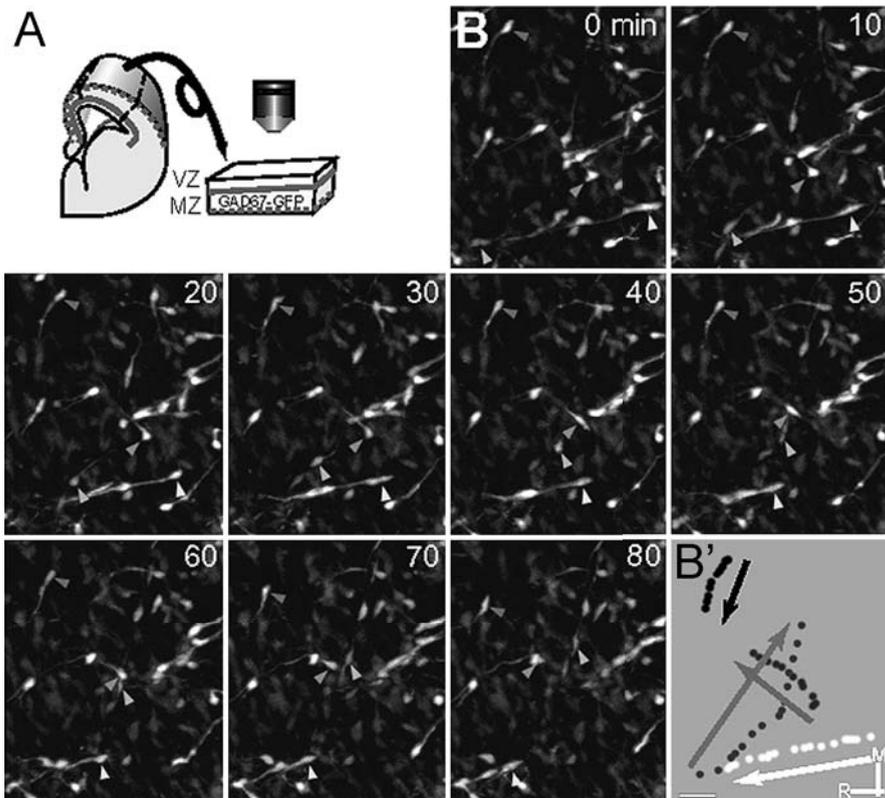


図4 MGE由来のGABAニューロン辺縁層での移動. DsRed遺伝子を電気穿孔法で胎仔のMGEに導入した, 標識された細胞が皮質辺縁層到達するまで数日間待った後, 皮質を2次元に展開して(A) real-time imagingを行った. Bの各パネルの右上の数字は観察を計測開始後の時間を示す. あらゆる方向に細胞が動いていることがわかる. B'は移動方向の例を示す. スケールバー: 20 μm (Tanaka et al., 2006)

ロンは多方向への移動をすることを意味している⁷⁾.

我々は更にその振る舞いを詳細に観察するために長時間に亙る観察を試みた結果, 数日間に及ぶGABA作動性ニューロンの移動の様子を捉えることに成功した. 辺縁帯のGABA作動性ニューロンは特定の方向に移動をし続けることはなく, 屢々その方向性を変化させ, 特定の規則にしたがって移動している様子は観察されなかった(図5). また移動細胞の多くは辺縁帯に2日以上に亙って滞留し続けた. 規則性の認められないGABA作動性ニューロンの動きはその特徴から我々はこれがランダムウォークではないかと考えて理論的解析を行った結果, それを支持する結果が得られた⁷⁾. GABA作動性ニューロンが辺縁帯に長時間に亙って滞在すること相俟って, このことは辺縁帯においてGABA作動性ニューロンの拡散が起こっているのではないかと考えを支持している.

5. ケモカインの役割

次に我々はこれに加えて, GABA作動性ニューロンが2日以上という長期に亙って辺縁帯に留まる機構の解明に取り組んだ. 辺縁帯は髄膜の直下にあるが, 髄膜にはケモカインの一種であるSDF-1が発現していることが知られている. また, SDF-1は神経細胞に対して誘引作用を持っていることも知られていた. そこでGABA作動性ニューロンが髄膜直下に長

期に亙って滞留するのはSDF-1の誘引作用によるのではないかと考え, その検証を行った. そのため, まずSDF-1の受容体であるCXCR4が辺縁帯のGABA作動性ニューロンに発現していることを確認した⁸⁾. 次に生体内でSDF-1がGABA作動性ニューロンを誘引することが出来ることを確認するため, 電気穿孔法を用いて興奮性細胞にSDF-1を強制発現させ, GABA作動性ニューロンの分布への影響を調べた. その結果, GABA作動性ニューロンがSDF-1を発現する興奮性細胞を好むかのようにその近傍に高密度に分布することが明らかになった. 次に辺縁帯へのGABA作動性ニューロンへの滞留にCXCR4を介するシグナリングが関与しているかどうかを明らかにするために, CXCR4をloxP配列で挟んだ遺伝子改変マウス(Cxcr4^{Fl/F})を用い, そのMGEにcre recombinase遺伝子を電気穿孔法により導入することでGABA作動性ニューロン特異的にCXCR4の発現を抑制した. すると, 元来辺縁帯に多くが分布するはずであるGABA作動性ニューロンがより皮質の深部に分布するようになった⁸⁾(図6). この結果は, 生体内でGABA作動性ニューロンが髄膜から放出されるSDF-1によって誘引されているとの考えを支持するものである.

次に以上の知見を利用してGABA作動性ニューロンが辺縁帯に滞留することの意義を探った. もし辺縁帯におけるラ

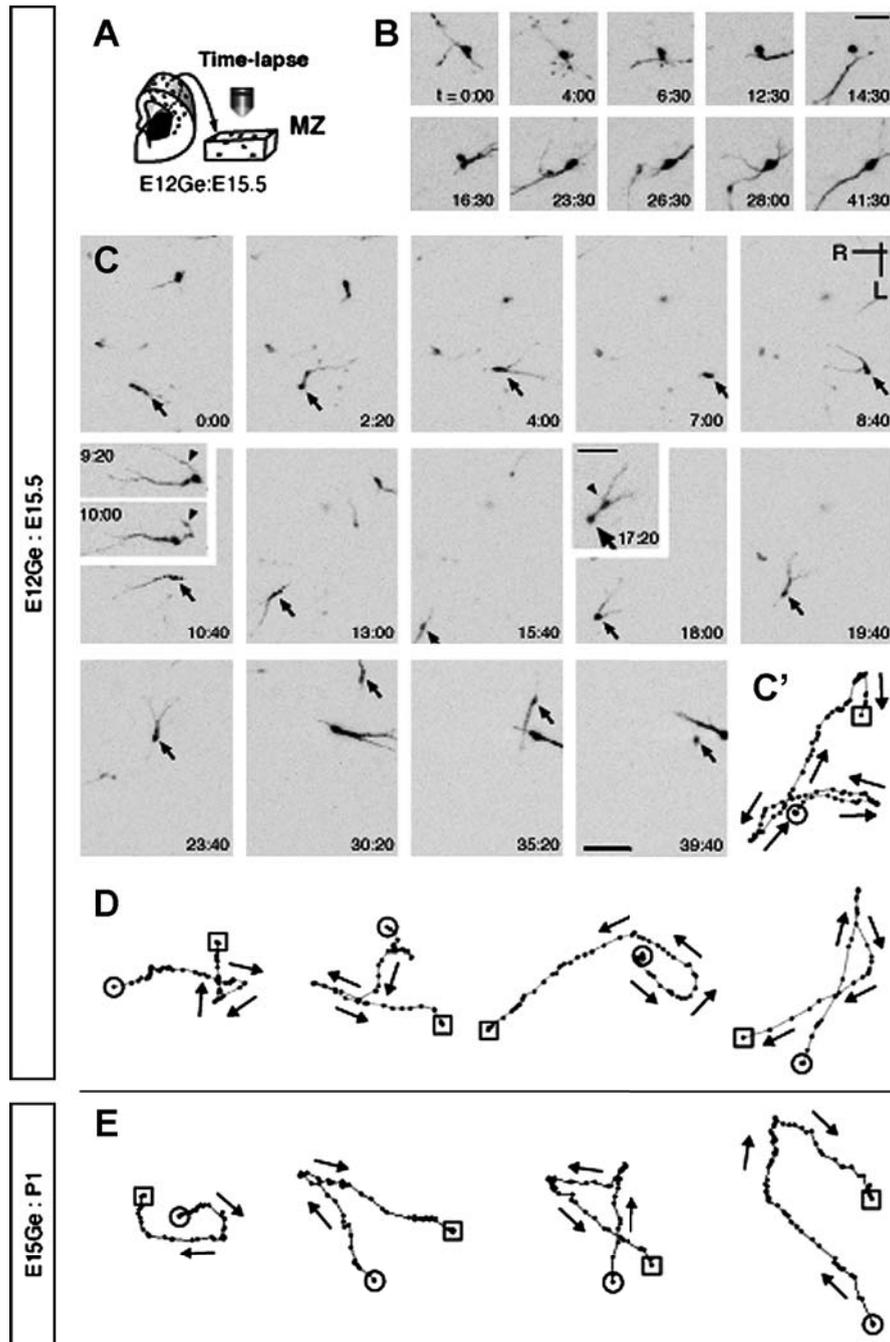


図5 MGE由来のGABAニューロン辺縁層での長時間に亘る酔歩様の移動。Aは方法を示す。説明は図4に準拠。B, C, 特定の細胞を選んで長時間に亘る挙動を解析した。C'はCに示す細胞の軌跡を、Dは他の4つの細胞の軌跡を示す。何れも頻繁に移動方向を変えていることがわかる。A-Dは胎生12日目で電気穿孔を行い、15.5日目で観察したもの(E12Ge/E15.5)。EはDと同様だが、胎生15日目で電気穿孔を行い、生後1日目で観察を行った細胞の例を示す。スケールバー：B, 30 μm ；C-E, 50 μm ；C (挿入図), 25 μm (Tanaka et al., 2009, <http://www.jneurosci.org/> より)

ンダムウォーク様の移動がGABA作動性ニューロンの拡散に寄与しているとすれば、これを乱せばGABA作動性ニューロンの最終分布に異常が生ずる筈である。そこで我々はタモキシフェン投与によりGABA作動性ニューロンにおけるCXCR4の発現が抑えられると同時にGFPが発現するようになるトランスジェニックマウス、 $\text{Dlx1/2-CreER}^{\text{Tg}/+}$; $\text{CAG-CAT-EGFP}^{\text{Tg}/+}$; $\text{Cxcr4}^{\text{F/F}}$ を作製し、GFP陽性細胞の分布を観

察した。GABA作動性ニューロンは発現する分子の種類によって複数のサブタイプに分類することができるが、そのうちNeuropeptide Y陽性細胞、Calretinin陽性細胞の皮質内分布に大きな違いが見いだされた。このことは辺縁帯における長期間に亘る移動の継続はGABA作動性ニューロンのサブタイプが皮質内に正しく分布するのに必要であることを示している⁹⁾。

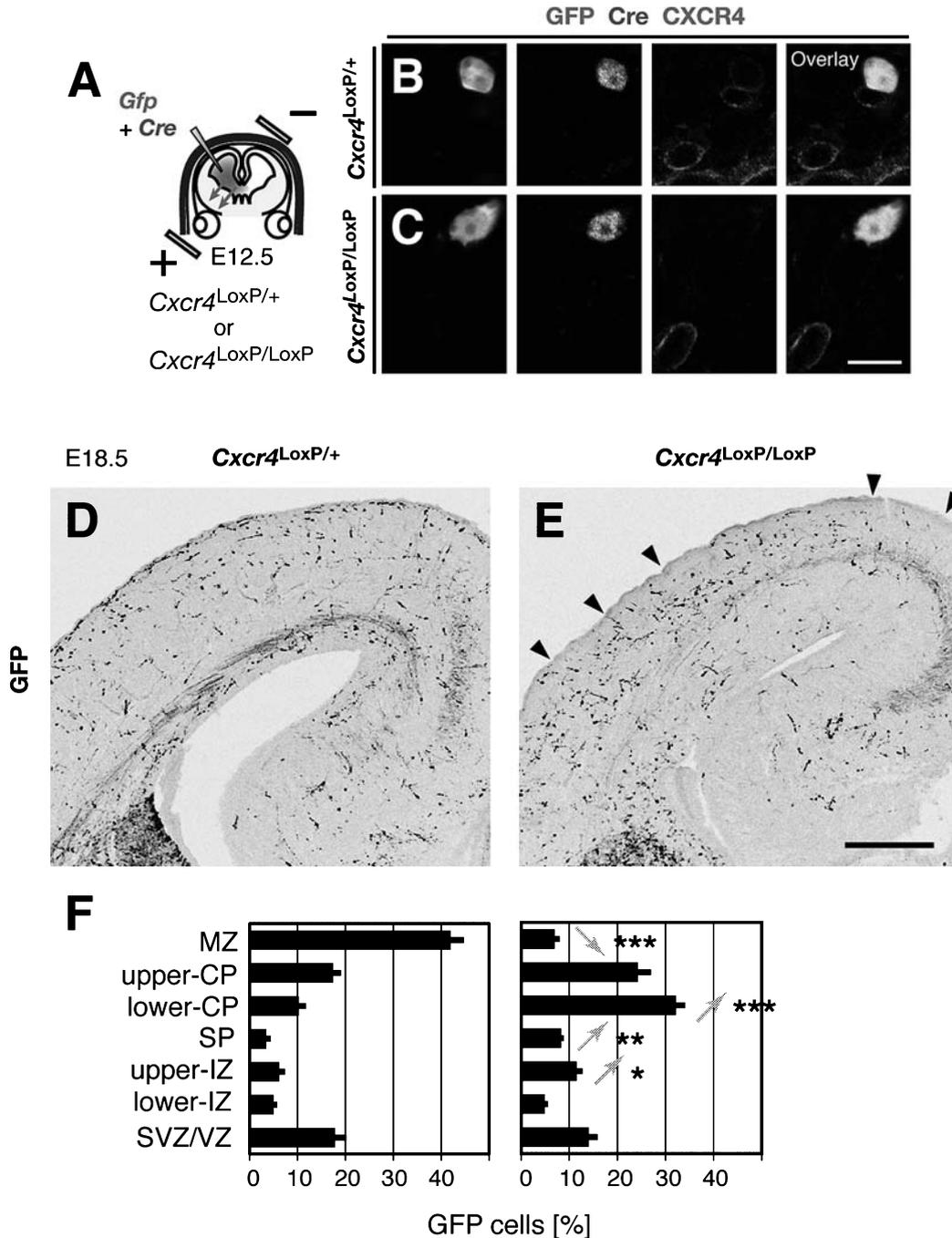


図6 MGE由来のGABAニューロン辺縁層での移動にケモカインであるSDF-1とその受容体CXCR4を介するシグナリングが必要である。A, *Cxcr4*をloxP配列で挟んだ遺伝子改変マウスを用い、そのホモ接合体マウス (*Cxcr4*^{LoxP/LoxP}) またはヘテロマウス (*Cxcr4*^{LoxP/+}) のMGEに電気穿孔法を用いて *Gfp* 遺伝子と *Cre recombinase* 遺伝子の両方を導入した。B, ヘテロマウス (*Cxcr4*^{LoxP/+}) では *Cre* を発現する細胞 (2列目) にCXCR (3列目) の発現が認められるが、ホモマウス (*Cxcr4*^{LoxP/LoxP}) (C) では消失している。DとEはそれぞれB, Cと同様な条件で実験を行い、胎生18.5日目でGFPによって標識される細胞を観察したもの。それぞれの、下部 (F) に分布を定量化した結果を示してある。コントロール (*Cxcr4*^{LoxP/+}) では多くの細胞が辺縁帯 (MZ) に分布していたものが、ホモマウスではより深層である皮質板 (CP) に分布するようになっている。スケールバー: B, C, 10 μ m; D, E, 300 μ m. (Tanaka et al., 2009, <http://www.jneurosci.org/> より)

6. 神経細胞移動と極性形成

脳を構成する神経細胞は極性を有する細胞であり、一本の軸索突起と数本の樹状突起をのびしている。樹状突起は信号

を受容するアンテナの役割を果たし、軸索突起は神経細胞で処理された信号の出力を次の神経細胞に伝える役割を果たしている。つまりこのような神経細胞の形態は神経細胞の行方情報処理にとって欠かせない重要なものである。しかし、脳

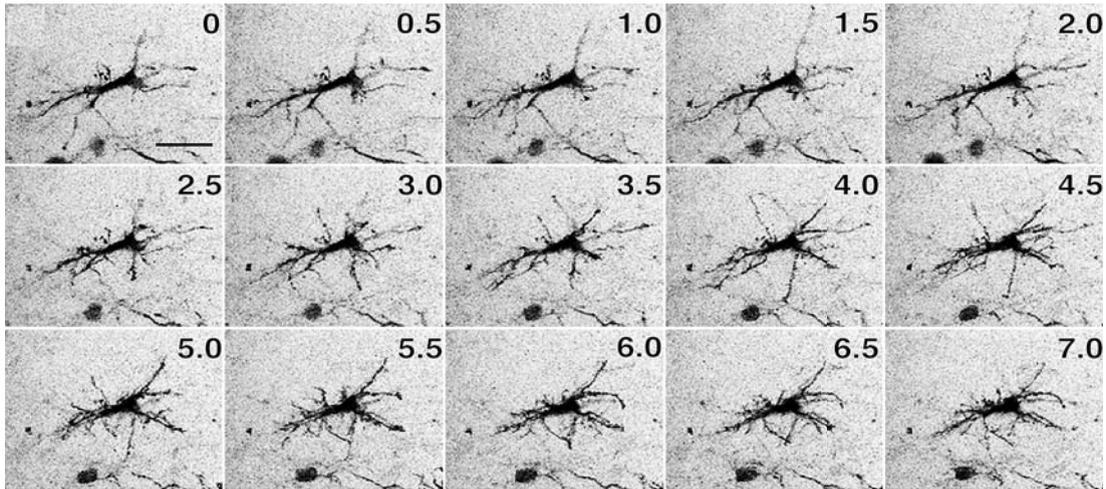


図7 皮質のGABAニューロンは過渡的にウニのような無極性の形態を示す。電気穿孔法で標識され、生後0.5日目に皮質で観察された細胞。右上は観察を始めてからの時間。激しく突起を伸縮させていることがわかる。(Yamasaki et al., 2010, <http://www.jneurosci.org/> より) スケールバー: 30 μ m

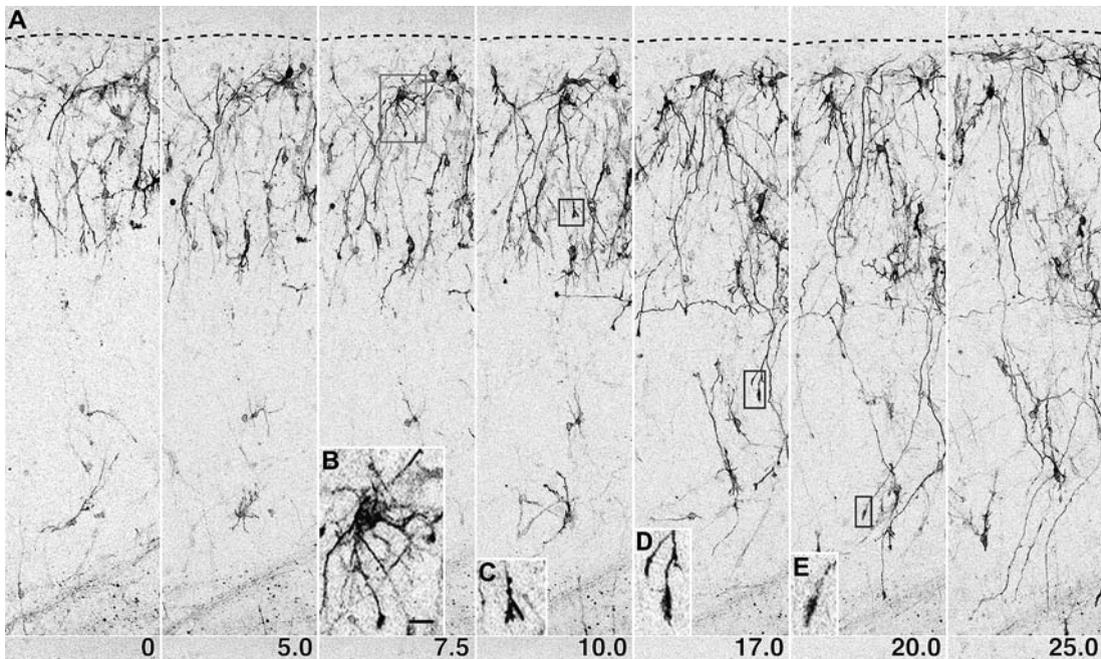


図8 GABAニューロンは一無極性の形態を経て軸索の伸長を開始する。A, ウニのような無極性の形態をした神経細胞から軸索突起が伸び出す様子を示す図。右下は観察を始めてからの時間。B-Eの挿入図はそれぞれのフレームにおいて四角で囲んだ部分を拡大したもの。Bは細胞体、D-Eは成長円錐を示す(Yamasaki et al., 2010, <http://www.jneurosci.org/> より)

の発生の過程で未熟な細胞からどのようにしてこのような形態が生まれるのか、またどのようにして一本の軸索突起が伸び出し、残りが樹状突起になるのかは謎に包まれていた。

発生期の脳では神経細胞は神経上皮細胞と呼ばれる細胞から生み出されているが、この神経上皮細胞は極性を有している。また新しく生まれた細胞は移動を始め、別の場所へ移動してから成熟するが、この移動の際には神経細胞は移動方向に先端突起と呼ばれる運動性の高い突起を伸ばしている。つまり移動中の神経細胞も極性を有している。したがって、未成熟な細胞が有している極性が受け継がれる、すなわち例え

ば先端突起が軸索になると考えれば、成熟神経細胞の極性の成り立ちは容易に説明することができる。これを確かめるには軸索伸展の過程を観察すれば良いが、これまでにそのような神経細胞の成熟の過程を実際に観察した報告はなかった。

そこで我々は大脳皮質のGABA作動性ニューロンに着目して、このニューロンが成熟していく過程を長時間に亘って観察することで、これまでの考えとは異なる結果を得た。大脳皮質のGABA作動性ニューロンはマウスではちょうど胎仔が生まれる頃に移動を終える。そこでこの時期に焦点を当てて観察したところ、ウニのように多くの棘状の突起を持ち、

それを伸縮させながらゆっくりと動いている細胞がいることを見いだした(図7)。さらに興味深いことに、その後突然にその中の一本が急激に伸び出して、軸索のような長い突起になることが確認された(図8)。このことは移動細胞が一旦その極性を失い、何らかの新たな機構により、成熟神経細胞の極性が獲得されることを意味している¹⁰⁾。

次に疑問となるのはこのような現象の一般性である。筆者の研究室の研究員の山内と生理学研究所の島中は共同で、大脳皮質の興奮性ニューロンの極性形成の過程の解明に取り組んだ。そのため胎生12.5日目のマウスの皮質の脳室帯を電気穿孔法で標識し、数日後に皮質で観察される細胞の動態の観察を行った。その結果、皮質の興奮性細胞も抑制性細胞と同様に一過性にウニのような形状を示した後、その突起の一本が勢いよく伸び出して軸索様の突起となることが確認された¹¹⁾。

以上のことからウニのような形状を経て、すなわち一時的に極性を失ったような形態を示した後には軸索が伸び出すのは一般的な現象である可能性が高い。

7. 生体脳における移動

細胞移動はこれまで様々な *in vitro* 標本を用いて研究が進められてきた。しかしながら、細胞や脳の一部を取り出す *in vitro* 標本で観察される現象は実際に脳の中で起こっている事とは異なる可能性が考えられる。そこで我々は生きた動物の中の細胞の移動を直接観察することのできる実験系の開発を進めている。皮質の展開標本は切片標本とは異なり皮質全体を保全しているために、基本構造が維持され、細胞はその中を自由に動き回ることが可能である。したがって、展開標本で観察される細胞の動きは生体内での動きをかなり忠実に反映したものと考えられる。しかしながら、皮質に向かう、あるいは皮質から皮質下に投射する線維は切断されているはずであるし、展開標本の外に細胞は移動することもできない。血液の循環も止まっている。すなわち生体内の条件とは異なっており、細胞移動も何らかの影響を受けている可能性も考えられる。この可能性を評価するためには、全動物標本を用いて細胞移動を観察するしかない。そこで我々は母マウスから取り出した胎仔からの記録を試みた。胎仔は臍帯で母マウスとつながった状態を維持しつつプラスチックのボックスに入れて固定した。そして頭部の皮膚を除去し、頭蓋骨の上から二光子顕微鏡を用いて観察を行った。幸い胎仔の頭蓋骨は透明度が高く、観察の障害にはならない。観察の結果、展開標本で見られたとおり、細胞の移動は全ての方向を向いていた。また先導突起の多くは分枝を形成しており、方向転換の際は複数ある分枝の内一本を選択することによって、それ

を実現することが明らかになった¹²⁾。これらの観察結果は大筋において、これまでの *in vitro* の観察結果を支持するものであった。

8. おわりに

スライス標本の利用からはじまった GABA 作動性ニューロンのライブイメージングは展開標本、半切標本そして全動物標本へと新たな標本を開発することにより、また細胞の標識方法をトランスジェニックマウスの利用から子宮内電気穿孔法の利用により様々な限界の克服が行われ、新たな展開に繋がってきた。筆者らが現在用いている摘出胎仔標本の二光子顕微鏡による観察は現時点では生体内で起こっている現象を理解するのにもっとも適している。しかしながら、胎児の母体からの摘出という操作は胎仔に大きな負荷を与えてしまう可能性もあり、さらなる改善が求められる。具体的には胎仔を母体から取り出すことなく観察することが望ましい。また子宮内電気穿孔法による遺伝子の導入は単なる細胞の標識に留まらず、遺伝子の発現の抑制や過剰発現などにも用いることができるため、今後さらに応用が広まるとされる極めて有効な手段である。今後は可視化技術と標本の改善により更なる研究の進展があることを期待したい。

文 献

- 1) Kawaguchi, Y. and Kubota, Y.: *Cereb. Cortex.*, 6, 476–486 (1997)
- 2) Markram, H., Toledo-Rodriguez, M., Wang, Y., Gupta, A., Silberberg, G. and Wu, C.: *Nat. Rev. Neurosci.*, 5, 793–807 (2004)
- 3) Marín, O. and Rubenstein, J.L.: *Nat. Rev. Neurosci.*, 2, 780–790 (2001)
- 4) Marín, O. and Rubenstein, J.L.: *Annu. Rev. Neurosci.*, 26, 441–483 (2003)
- 5) Parnavelas, J.G.: *Trends Neurosci.*, 23, 126–131 (2000)
- 6) Tanaka, D., Nakaya, Y., Yanagawa, Y., Obata, K. and Murakami, F.: *Development*, 130, 5803–5813 (2003)
- 7) Tanaka, D.H., Maekawa, K., Yanagawa, Y., Obata, K. and Murakami, F.: *Development*, 133, 2167–2176 (2006)
- 8) Tanaka, D.H., Yanagida, M., Zhu, Y., Mikami, S., Nagasawa, T., Miyazaki, J., Yanagawa, Y., Obata, K. and Murakami, F.: *J. Neurosci.*, 29, 1300–1311 (2009)
- 9) Tanaka, D.H., Mikami, S., Nagasawa, T., Miyazaki, J., Nakajima, K. and Murakami, F.: *Cereb. Cortex.*, 20, 2810–2817 (2010)
- 10) Yamasaki, E., Tanaka, D.H., Yanagawa, Y. and Murakami, F.: *J. Neurosci.*, 30, 15221–15227 (2010)
- 11) Hatanaka, Y. and Yamauchi, K.: *Cereb. Cortex.*, 2012 Jan 19. [Epub ahead of print]
- 12) Yanagida, M., Miyoshi, R., Toyokuni, R., Zhu, Y. and Murakami, F.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (in press)