

1-3 神経分化

東島 真一（助教授）

1) 専門領域：発生神経科学、神経生理学

2) 研究課題：

ゼブラフィッシュを用いた、脊髄運動系神経回路網の解析

3) 研究活動の概略と主な成果：

近年の脊髄神経発生研究により、いくつかの転写因子の発現に仲介されて、形態学的に異なったタイプの介在神経細胞が分化してくることが示唆されている。しかしながら、これらの介在神経細胞が、最終的に神経回路網の中で機能的にどのようなタイプの神経細胞へ分化していくかは、まだほとんど分かっていない。ゼブラフィッシュは、その脊髄神経回路が単純であるため、上記の課題を追求するためのよいモデル生物である。こういった背景の元、我々は、特定の転写因子の発現する神経細胞の、発生分化および、回路中での機能の解析を、ゼブラフィッシュを用いて進めている。

この課題にアプローチするため、中枢神経系の特定の種類の神経細胞で、蛍光タンパク質を発現するトランスジェニックゼブラフィッシュを作製して、それら神経細胞を生きたまま可視化することを方法論の中心に据えて研究している。可視化することで、神経細胞の発生過程（軸索の伸長、樹状突起の成長、神経細胞の移動等）をダイレクトに追跡することができる。さらには、機能している神経回路中で、蛍光を発する特定のクラスの神経細胞をねらって電気生理学的な解析を行うことができる。このような解析を通じて、神経発生から神経機能解析までをつなげていきたいと考えている。

特に昨年度は、転写因子 En1 を発現する神経細胞の、脊髄運動系神経回路での役割の解析を中心に研究を行った。En1 細胞を GFP で可視化し、それらが同側性上行介在ニューロンであることを示した。また、運動ニューロン、運動系の介在ニューロン、および、感覚系の介在ニューロン等の、多種の神経細胞が、一つの En1 細胞のシナプス標的になっていることが示唆された。マーカー遺伝子との二重染色により、En1 細胞はすべてグリシン作動性であることを示した。さらに、En1 細胞は、ventral root の活動と同期して発火することを明らかにした。二細胞同時記録を取ることで、感覚系介在ニューロンが実際にシナプス標的になっていることを示した。これらすべてを総合して、En1 陽性細胞は遊泳運動中に（1）運動系神経活動に対しての反回性抑制と、（2）感覚系介在ニューロンを抑制することによる反射系のゲーティング、との2つの機能に関わっていることが強く示唆された。哺乳類においても En1 陽性がこれらの機能に関わっていることが期待される。

次なるステップとして、現在、転写因子 Chx10, Vsx1, Evx2, Dbx1 を発現する神経細胞の解析を行っている。また、これら転写因子を発現する神経細胞の機能を阻害する（たとえば、発火できなくさせる、あるいは、シナプス伝達ができなくなる）系の開発を進めつつある。

4) 学術論文

S. Higashijima, G. Mandel and J.R. Fetcho, "Distribution of prospective glutamatergic, glycinergic, and GABAergic neurons in embryonic and larval zebrafish" *J. Comp. Neurology*, **480**, 1-18 (2004).

S. Higashijima, M. Schaefer and J.R. Fetcho, "Neurotransmitter properties of spinal interneurons in embryonic and larval zebrafish" *J. Comp. Neurology*, **480**, 19-37 (2004).

S. Higashijima, M. Masino, G. Mandel and J.R. Fetcho, "Engrailed-1 expression marks a primitive class of inhibitory spinal interneuron" *J. Neuroscience* **24**, 5827-5839 (2004).

W.-C. Li, S. Higashijima, D.M. Parry, A. Roberts and S.R. Soffe, "Primitive roles for inhibitory interneurons in developing frog spinal cord" *J. Neuroscience*, **24**, 5840-5848 (2004).