

## 1-3 神経分化

東 島 眞 一 (准教授)

1) 専門領域：発生神経科学，神経生理学

2) 研究課題：

- a) 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
- b) ゼブラフィッシュの特定の神経細胞の活動を変化させることによる神経回路機能の解析

3) 研究活動の概略と主な成果：

- a) 異なった転写因子の発現の組み合わせにより，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されてきている。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，どのような役割を果たす神経細胞へ分化していくかについてはまだよく分かっていない。ゼブラフィッシュは，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回路中での機能解析をゼブラフィッシュを用いて進めている。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をダイレクトに追跡することができ，また，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。

転写因子 *nkx2.2* に関する解析を以下に述べる。*nkx2.2* に関して，その陽性細胞から由来する神経細胞（以下，*nkx2.2* ニューロンとよぶ）がどのような神経細胞へ分化していくかを，トランスジェニックフィッシュを作製して解析した。その結果，*nkx2.2* ニューロンには，同側上行性の GABA 作動性の介在ニューロンと，同側下降性のグルタミン酸作動性ニューロンの二者が存在することを明らかにした。このうち，後者について電気生理学的解析を行った。その結果，それらは，遊泳行動の際に発火確率が高まることが明らかとなった。また，その発火パターンは，遊泳行動に伴う運動ニューロンの発火リズムとは同期していなかった。これらの結果より，*nkx2.2* 発現細胞から由来するグルタミン酸作動性ニューロンは，遊泳行動の際に，脊髄全般の興奮性を高め，それを維持することに寄与している可能性が考えられる。

*nkx2.2* 以外にもさまざまな転写因子に関して，その陽性細胞の可視化を進めている。すでに多くのトランスジェニックフィッシュの作製に成功しており，今後，これらに関する形態学的解析，電気生理学的解析を進めていく予定である。

- b) a) の項の研究により，特定のクラスの神経細胞を可視化できるようになり，その神経回路中での役割が推測できるようになると，次なる課題は，その神経細胞の活動に人為的に変化を加えて，その結果（たとえば動物の行動パターン）を見ることである。それにより，推測された神経細胞の役割を，より確かな因果関係として提示することができるようになる。まず，神経細胞を不活化する系の開発を進め，テタナス毒素により

特定のクラスの神経細胞を不活化させることができる系を確立した。ついで、nkx2.2 発現細胞に関してこの系を適用し、nkx2.2 発現細胞から由来するグルタミン酸作動性ニューロンを不活化した。得られた幼魚は、行動性が低下するという表現型を示した。この結果は、nkx2.2 発現細胞から由来するグルタミン酸作動性ニューロンが、運動時に脊髄全般の興奮性増加に関与するという仮説をさらに支持するものである。

#### 4) 学術論文

**Y. Kimura, C. Satou and S. Higashijima**, “V2a and V2b neurons are generated by the final divisions of pair-producing progenitors in the zebrafish spinal cord” *Development*, **135**, 3001-5 (2008).

**A. Miyake, S. Higashijima, D. Kobayashi, T. Narita, T. Jindo, DHF. Setiamarga, S. Ohisa, N. Orihara, K. Hibiya, S. Konno, S. Sakaguchi, K. Hoie, Y. Imai, K. Naruse, A. Kudo and H. Takeda**, “Mutation in the *abdb* gene causes abnormal iron and fatty acid metabolism in developing medaka fish”. *Development, Growth & Differentiation*, **50**, 703-16 (2008).

**I. Hossain, H. Iwasaki, Y. Okouchi, M. Chahine, S. Higashijima, K. Nagayama and Okamura, Y.** “Enzyme domain affects the movement of the voltage sensor in ascidian and zebrafish VSPs” *J. Biol. Chem.*, **283**, 18248-59 (2008).

#### 5) 著書, 総説

**S. Higashijima**, “Transgenic zebrafish expressing fluorescent proteins in central nervous system neurons” *Development, Growth & Differentiation*, **50**, 407-13 (2008).

#### 6) 国際会議発表リスト

**C. Satou, Y. Kimura and S. Higashijima**, “Analysis of spinal V0 neurons with transgenic fish” Neuroscience 2008, Washington DC (USA), (2007.11).

**Y. Kimura, C. Satou and S. Higashijima**, “V2a and V2b neurons are generated by the final divisions of pair-producing progenitors” Neuroscience 2008, Washington DC (USA), (2007.11).

#### 7) 招待講演

東島眞一, 木村有希子, 佐藤千恵, “ゼブラフィッシュのロコモーションの成魚に関わる脊髄神経回路の分子的基盤” 第80回日本遺伝学会ワークショップ (名古屋), (2008.9).

#### 8) 学会および社会的活動

世界脳週間講演 (2008年5月, 岡崎)

生理研一般公開の際に, 中日新聞へ資料提供 (2008年11月, 新聞公開)

ゲノムひろばにて一般市民へ研究紹介 (2008年12月, 福岡)

岡崎げんき館にて一般市民向けの公開講演 (2009年3月, 岡崎)

#### 9) 他大学での非常勤講師, 客員教授

名古屋大学大学院生命理学研究科, 特別講義

11) 外部獲得資金

科学研究費補助金 基盤研究(B),「ゼブラフィッシュ脊髄運動系神経回路の形成機構および回路機能の解析」, 東島真一(代表)(2007-2009年).

科学研究費補助金 特定領域研究 統合脳,「遺伝学的に神経細胞の活動を改変させることによる, 神経回路機能の解析」, 東島真一(代表)(2008年).

科学研究費補助金 特定領域研究 生命システム情報,「脊椎動物中枢神経系ニューロン後期発生機構の包括的解析」, 東島真一(代表)(2008年).

科学研究費補助金 新学術領域研究 分子行動学,「ゼブラフィッシュを用いた, 脊椎動物脊髄運動系神経回路の動作原理の解明」, 東島真一(代表)(2008-2012年).

理化学研究所共同研究,「蛍光タンパク質を応用した in vivo イメージング技術の開発」, 東島真一(共同研究担当者)(2006-2009年).