

時系列生命現象研究領域

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・後脳運動系神経回路網の解析

b) 特定のクラスの神経細胞の活動を光遺伝学的に変化させることによる、ゼブラフィッシュ脊髄・後脳運動系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不明な点が多い。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、それら神経細胞を生きの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。今年度は特に、転写因子 **dbx1** を発現する神経前駆体細胞から由来する抑制性神経細胞(以下、**V0-iIN**とよぶ)と、転写因子 **dmrt3** を発現する抑制性神経細胞(以下、**d6-iIN**とよぶ)に関する解析を行った。その結果、**V0-iIN**と **d6-iIN**はともに交叉型介在ニューロンで、遊泳運動の左右の屈曲に関して相互抑制に関与する神経細胞であることが明らかとなった。

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。特に、近年開発されたチャンネルロドプシン(**ChR**)を代表とする光遺伝学的ツールは、体が透明なゼブラフィッシュに好適である。今年度は転写因子 **Chx10** を発現する細胞の解析を中心に研究を行った。**Chx10** 発現細胞に神経活動を活性化させるチャンネルロドプシンを発現する魚を作製し、様々な領域に光照射を行った。その結果、後脳の中中部および後部にわたる領域において、光刺激により遊泳行動の誘発が可能であることが示された。また、逆に、**Chx10** 発現細胞に神経活動を不活性化させるチャンネルロドプシンを発現する魚を作製し、自発的に起こった遊泳運動を光照射によりスト

ップさせることが可能であるかを検討した。その結果、後脳の中中部および後部に光照射を行うことで、自発的に起こった遊泳運動をストップさせることができた。この結果は、後脳の中中部および後部のChx10細胞群が遊泳行動の開始・維持に重要な役割を果たしていることを示唆している。

4) 学術論文

C. Satou, Y. Kimura and S. Higashijima, "Generation of multiple classes of V0 neurons in zebrafish spinal cord: progenitor heterogeneity and temporal control of neuronal diversity" *J. Neuroscience* 32, 1771-1783 (2012).

M. Behra, VE. Gallardo, J. Bradsher, A. Torrado, A. Elkahloun, J. Idol, J. Sheehy, S. Zonies, L. Xu, KM. Shaw, C. Satou, S. Higashijima, B. Weinstein, and SM. Burgess, "Transcriptional signature of accessory cells in the lateral line, using the Tnk1bp1:EGFP transgenic zebrafish line" *BMC Dev. Biol.* 12, 6 (2012).

E. Eklöf-Ljunggren, S. Haupt, J. Ausborn, I. Dehnisch, PS. Uhlén, S. Higashijima, and A. El Manira, "Origin of excitation underlying locomotion in the spinal circuit of zebrafish" *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 109, 5511-5516 (2012).

PR. Jusuf, S. Albadri, A. Paolini, P. Currie, F. Argenton, S. Higashijima, WA. Harris, and L. Poggi, "Biasing amacrine subtypes in the Atoh7 lineage through expression of Barhl2" *J. Neuroscience* 32, 13929-13944 (2012).

5) 著書、総説

東島眞一、木村有希子 "オプトジェネティックツールを用いた、ゼブラフィッシュ運動系神経回路の解析" 実験医学 羊土社、2588-2599 (2012).

6) 国際会議発表リスト

7) 招待講演

S. Higashijima, Y. Kimura and C. Satou, "Functional analysis of locomotor circuits in the spinal cord and brainstem in zebrafish" 第35回日本神経科学大会、名古屋、2011年9月.

8) 学会および社会的活動

9) 他大学での非常勤講師、客員教授

10) 受賞、表彰

11) 外部獲得資金

科研費基盤研究(B)、「細胞系譜のライブ追跡手法による、脊髄神経細胞分化機構の解析」、東島眞一(代表) (2011年-2013年).

科研費新学術領域研究 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」、東島眞一(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」、東島眞一(共同研究担当者) (2012年)

ナショナルバイオリソースプロジェクト、「ゼブラフィッシュの収集、保存、提供」、東島眞一(分担) (2012-2016年)

12) 特許