

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
- c) 胸びれのリズム運動を司る神経回路の解析

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。今年度は特に、背側脊髄の発生機構を解析した。発生期背側でドメイン様に発現する複数の転写因子に関してトランスジェニックフィッシュを作製し、それぞれのトランスジェニックフィッシュにおける蛍光タンパク質の発現領域を詳細に検討した結果、発生期の背側は6つのドメインが形成されることが明らかとなった。また神経伝達物質特性とリンクして蛍光タンパク質を発現するトランスジェニックフィッシュと掛け合わせることで、それぞれのドメインから生じる神経細胞の神経伝達物質特性を明らかにすることに成功した。

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。

c) a, b の項の研究では主に体幹を用いた運動を研究対象としているが、それとともに、胸びれのリズム運動を司る神経回路の解析を本年度より開始した。胸びれのリズム運動は、外転筋、内転筋の左右相互のシンプルな運動からなり、陸上脊椎動物四肢の運動のプロトタイプと考えることができる。このリズム運動を司る神経回路を特定のクラスの神経細胞を可視化したトランスジェニックフィッシュ、および光遺伝学ツールを用いて解析していく。

4) 学術論文

C. Satou, Y. Kimura, H. Hirata, ML. Suster, K. Kawakami, and S. Higashijima, "Transgenic tools to characterize neuronal properties of discrete populations of zebrafish neurons" *Development* 140, 3927-3931 (2013).

H. Mizuno, T. Sassa, S. Higashijima, H. Okamoto, and A. Miyawaki, "Transgenic zebrafish for ratiometric imaging of cytosolic and mitochondrial Ca^{2+} response in teleost embryo" *Cell Calcium* 56, 236-245 (2013).

R. Hirabayashi, S. Hozumi, S. Higashijima, and Y. Kikuchi (2013). "Ddx46 Is Required for Multi-lineage differentiation of hematopoietic stem cells in zebrafish" *Stem Cells and Development* 22, 2532-2542 (2013).

MM. Reimer, A. Norris, J. Ohnmacht, R. Patani, Z. Zhong, TB. Dias, V. Kuscha, AL. Scott, Y. Chen, S. Rozov, SL. Frazer, C. Wyatt, S. Higashijima, EE. Patton, P. Panula, S. Chandran, T. Becker, and CG, Becker, "Dopamine from the brain promotes spinal motor neuron generation during development and adult regeneration" *Developmental Cell* 25, 478-491 (2013).

T. Aoki, M. Kinoshita, R. Aoki, M. Agetsuma, H. Aizawa, M. Yamazaki, M. Takahoko, R. Amo, A. Arata, S. Higashijima, T. Tsuboi, and H. Okamoto, "Imaging of Neural Ensemble for Retrieval of a Learned Behavioral Program" *Neuron* 78, 881-894 (2013).

Y. Kimura, C. Satou, S. Fujioka, W. Shoji, K. Umeda, T. Ishizuka, H. Yawo, and S. Higashijima, "Hindbrain V2a neurons in the excitation of spinal locomotor circuits during zebrafish swimming" *Current Biology* 23, 843-849 (2013).

S. Shimozone, T. Iimura, T. Kitaguchi, S. Higashijima, and A. Miyawaki A. "Visualization of an endogenous retinoic acid gradient across embryonic development" *Nature* 496, 363-366 (2013).

5) 著書、総説

木村有希子、東島眞一 "光遺伝学ツールを用いた、ゼブラフィッシュの行動制御" 細胞工学 秀潤社、印刷中 (2014).

6) 国際会議発表リスト

S. Higashijima, "Functional analysis of locomotor circuits in the spinal cord and brainstem in zebrafish" Jenaia Workshop on Zebrafish Genetics, Transgenesis, and Systems Biology, Ashburn USA, November 2013.

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36回日本分子生物学会大会、神戸、2013年12月.

S. Higashijima, Y. Kimura and C. Satou, "Functional analysis of locomotor circuits in the spinal cord and brainstem in zebrafish" 第91回日本生理学会大会、鹿児島、2014年3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
名古屋市立大学薬学部客員准教授

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 メゾ神経、「脊椎動物四肢リズム運動形成機構のプロトタイプ
の解析」、東島眞一（代表）（2013-2014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