

平成 27 年 6 月 27 日

平成 26 年度共同研究報告書

京都大学再生医科学研究所長 殿

研究代表者（申請者）

所属：国立遺伝学研究所

職名：教授

氏名：川上 浩一

下記のとおり共同研究課題の実施結果について報告します。

記

1. 研究課題：ゼブラフィッシュを用いた、脳構築・維持に関わる支持細胞・支持機構の解明
2. 再生医科学研究所共同研究者： 瀬原 淳子 教授
3. 研究期間：平成 26 年 4 月 1 日～平成 27 年 3 月 31 日
4. 研究経過及び研究成果：

川上はゼブラフィッシュの神経細胞およびグリア細胞において様々なパターンで蛍光蛋白質 GFP あるいは Gal4 を発現するゼブラフィッシュを作製してきた。それらのうち 1 系統では、ゼブラフィッシュの感覚器である側線の神経細胞を支持する Schwann 細胞で Gal4 を発現していた。瀬原と共同で、この系統においてはトランスジェニックフィッシュ作製に用いたトランスポゾンが ErbB2 遺伝子内に挿入し ErbB2 遺伝子を破壊していること、トランスジェニックフィッシュのホモ 2 倍体において Schwann 細胞形成に欠損が生じることを明らかにした。さらにドイツの López-Schier 博士と共同で、このトランスジェニックフィッシュ系統を利用して Schwann 細胞が障害を受けた側線神経細胞の再生に重要な枠割りを果たすことを突き止めた (Xiao Y., et al., 2015)。

また川上は、視蓋（中脳）において Gal4 を発現するトランスジェニックフィッシュの作製を行なった。瀬原と共同で、この系統では中脳の神経前駆細胞が可視化できることを明らかにし、その動態を調べることによって、増殖因子ニューレグリンの関わる脳神経細胞の分化・増殖メカニズムにおける新たな役割を見いだした (Sato T., et al., 2015)。以下にその内容を述べる。神経細胞の産生は、発生過程において、高次脳機能を獲得する上で必須な最初の段階である。神経細胞は、基本的に 2 つの段階を経て産生されると考えられる。第 1 に、神経幹細胞から神経前駆細胞が産生される段階、第 2 に、神経前駆細胞が分

裂して非増殖性の神経細胞を産生する段階である。神経発生においては、様々な細胞内や細胞外の分子機構が明らかにされているが、第2段階である、神経前駆細胞から分裂後の神経細胞を産生する過程については、ほとんど明らかにされていなかった。ErbBシグナルは、増殖、分化、移動など、細胞の挙動を制御する多能な制御因子である。ErbB4は、成人の高次脳機能の精神疾患である、統合失調症の感受性遺伝子でもある。このようなErbBシグナルの多様な役割は、ErbB受容体のヘテロ2量体と複数のリガンド分子に起因すると考えられる。本研究では、1) ErbBシグナルは、神経細胞の産生に関与しているか。2) どのErbB受容体が、神経細胞産生の過程に機能しているか。3) ErbBシグナルが神経細胞の産生をどのように制御しているか、という3つの課題に取り組んだ。神経発生の段階的過程を解析するために、ゼブラフィッシュの視蓋を脊椎動物の脳のモデル系として着目した。胚が透明なため、タイムラプス画像取得により、3次元の神経発生を時間を追って4次元で解析することが可能である。川上が作成した中脳神経幹細胞で特異的にGal4を発現するラインを用いて、一個の幹細胞に由来する神経前駆細胞・分化した神経細胞を可視化することができた。そして、ErbB阻害剤処理後、阻害剤除去後のタイムラプスにより、神経前駆細胞から神経細胞が産生される過程を調べることによって、ErbBシグナルが神経前駆細胞から神経細胞の産生に重要な役割を果たすことを見出した。アンチセンスモルフォリーノオリゴ(MOs)のインジェクションにより、ErbBリガンドのひとつニューレグリンとそのレセプターErbB4が責任受容体として同定された。一方、川上は、体節において特徴的な細胞でGal4を発現するトランスジェニックフィッシュ3ラインの作製にも成功した。トラップされた遺伝子を同定したところ、そのうち2ラインは体節においてそれらの機能が知られていない、同じファミリーに属する転写因子であることが判明した。そこで、瀬原と共同で、そのうちひとつ遺伝子のノックアウトマウスを作成し、このマウスが胎生致死で、その遺伝子が中胚葉細胞分化において必須の役割を果たすことを見出した(未発表)。

5. 研究成果の公表

※発表論文リスト(掲載予定、プレプリントを含む。準備中も可)、学会発表等

High-resolution live imaging reveals axon-glia interactions during peripheral nerve injury and repair. Xiao, Y., Faucherre, A., Pola-Morell, L., Heddleston, J.M., Liu, T.-L., Chew, T.-L., Sato, F., Sehara-Fujisawa, A., Kawakami, K., and López-Schier, H. **Disease Models & Mechanisms** (2015).

Neuregulin 1 type II-ErbB signaling promotes cell divisions generating neurons from neural progenitor cells in the developing zebrafish brain. Sato, T., Sato, F., Kamezaki, A., Sakaguchi, K., Tanigome, R., Kawakami, K., and Sehara-Fujisawa, A. **PLoS One** (2015). in press.