

平成 27 年 5 月 31 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：遺伝子トラップ・エンハンサートラップ法を用いた神経系支持細胞の同定と機能の解明
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 27 年 4 月 1 日～平成 28 年 3 月 31 日
4. 研究経過及び研究成果：

本研究において川上は、ゼブラフィッシュを用いた遺伝子トラップ法・エンハンサートラップ法により、神経系とその周辺の多様な細胞集団を可視化し、新規の神経系細胞の同定や神経回路の解明を行ってきた実績を生かし、中枢・末梢神経系構築における支持細胞集団の同定、機能解明を目指してきた。共同研究者瀬原は、同定細胞の性質を増殖因子や接着因子、プロテアーゼの働きを中心に明らかにしてきた実績を生かし、同様の支持機構が哺乳類でも働いていることの検証を目指した。我々が樹立した 1 系統、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 を発現するラインを用いて、そのトランスポゾンが 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 細胞移動・維持の欠損を見出した。さらにこのトランスジェニックフィッシュ系統を利用して脳神経系の発達における ErbB シグナリングの役割、そこに関わるニューレグリンアイソフォームの特定などに関する研究を行った。また、神経細胞に沿って移動・分化するグリア細胞を可

視化し、ニューレグリン-ErbB シグナリングへの依存性を調べてきた。現在、ニューレグリンアイソフォーム特異的な遺伝子ノックアウトフィッシュを作成し、それを証明しようとしている（論文準備中）。

一方、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が、この系統では中脳の神経前駆細胞が可視化でき、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すことができた。神経細胞の産生は、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。第 1 段階では、FGF, Wnt, Notch シグナルの関与などが明らかにされているが、第 2 段階の神経前駆細胞から神経細胞を産生する過程については、そのような増殖分化シグナルが必要かどうかは知られていなかった。そこで本研究では、ErbB シグナルに着目し、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、神経発生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検討した。そして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し、ErbB 阻害剤処理後、阻害剤除去後のタイムラプスを行い、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、ErbB4-ニューレグリン 1 タイプ II シグナルが、神経前駆細胞から神経細胞の産生に関与することを見出した。

次の問題は、これらの現象に関与するニューレグリンの産生がどのように制御されているか、ということである。ニューレグリンは、その細胞外ドメインがプロテアーゼの働きにより切断活性化されることが知られている。共同研究者はそのようなプロテアーゼの一種である ADAM に関する研究実績があることから、現在協力して、ニューレグリンがグリア産生や神経産生、シナプス形成などにおいて、どのように切断活性化、どのプロテアーゼにより切断活性化されるか、その活性化機構はどのようなものか、を現在検討中である。

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

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*, May 22;10(5):e0127360 (2015)

High-resolution live imaging reveals axon-glia interactions during peripheral nerve injury and repair in zebrafish. Xiao Y, Faucher A, Pola-Morell L, Heddleston JM, Liu TL, Chew TL, Sato F, Sehara-Fujisawa A, Kawakami K, López-Schier H. *Dis Model Mech*. 2015 Jun;8(6):553-64.

学会発表

Sato F, Nishimura D, Hori S, Arai H, Hiramuki Y, Sogabe M, Kuriki M, Choi M, Wang Z, Kawahara A, Kawakami K, Sehara-Fujisawa A. 48th Annual meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists

(第48回日本発生生物学会)、2015年6月5日(金) つくば国際会議場(茨城県つくば市)

Sato F, Nishimura D, Hori S, Arai H, Hiramuki Y, Sogabe M, Kuriki M, Choi M, Wang Z, Kawahara A, Kawakami K, Sehara-Fujisawa A. 48th Annual meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists

(第48回日本発生生物学会)、2015年6月3日(金) つくば国際会議場(茨城県つくば市)

佐藤智美、佐藤文規、亀崎青沙、坂口和弥、谷米竜馬、梶原健、永島雅文、川上浩一、瀬原淳子、BMB2015(第38回日本分子生物学会年会・第88回日本生化学会大会 合同大会)、2015年12月4日(金) 神戸ポートピアホテル(神戸市)