

平成 30 年 7 月 27 日

再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点
平成 29 年度共同研究報告書

京都大学ウイルス・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： 行動に関わる神経回路の同定とその機構
2. ウイルス・再生医科学研究所共同研究者： 瀬原 淳子
3. 研究期間：平成 29 年 4 月 1 日～平成 30 年 3 月 31 日

4. 研究経過及び研究成果：

(1) ゼブラフィッシュにおいて、To12を用いた遺伝子トラップコンストラクトをもつプラスミドDNAを、転移酵素mRNAとともに受精卵にインジェクションし、F1 胚をスクリーニングすることにより、神経細胞・筋細胞を含む細胞・組織・器官特異的に改変型酵母転写因子Gal4FFを発現するトランスジェニックフィッシュを新規に100系統作製した。サザンブロットィング、インバースPCRによりこれらにおけるTo12挿入部位近傍のゲノムDNAの解析を行い、挿入部位を決定した。神経細胞、筋細胞特異的にGal4を発現する系統を瀬原研に提供し、共同研究を開始した。

(2)細胞・組織・器官特異的Gal4FF発現トランスジェニックフィッシュを用い、以下のことを明らかにした。血液脳関門形成に関わる新規細胞群の発見、小脳顆粒細胞が恐怖条件付け学習の回復期に機能することを発見、稚魚の逃避行動に関わるグリシンリセプターのサブタイプを同定、脊索障害の修復の際に機能する新規細胞群を発見。

(3)Gal4FF発現トランスジェニックゼブラフィッシュのスクリーニングを行い、前視蓋あるいは視床下部下葉の特定の脳神経回路、および終脳特定の神経細胞で、Gal4FFを発現するトランスジェニックフィッシュを同定した。これらを基にして、カルシウムイメージングおよび機能

阻害実験を行い、エサなどの視覚刺激が食欲の中樞である視床下部下葉を活性化する神経回路を発見した(Muto et al. Nat Comm 2017)。また、恐怖条件付け学習に必須な終脳の特定の神経細胞を明らかにした(Lal et al. BMC Biol 2018)。

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、特許取得等

(発表論文)

- (1) Activation of the hypothalamic feeding centre upon visual prey detection. Muto, A., Lal, P., Ailani, D., Abe, G., Itoh, M., and Kawakami, K. **Nature Communications** 8, 15029 (2017).
- (2) A novel perivascular cell population in the zebrafish brain. Galanternik, M.V., Castranova, D., Gore, A.V., Blewett, N.H., Jung, H.M., Stratton, A.N., Kirby, M.R., Iben, J., Miller, M.F., Kawakami, K., Maraia, R.J., and Weinstein, B.M. **eLife** 6, e24369 (2017).
- (3) Analysis of transcription factors expressed at the anterior mouse limb bud. Yokoyama, S., Furukawa, S., Kitada, S., Mori, M., Saito, T., Kawakami, K., Belmonte, J. C. I., Kawakami, Y., Ito, Y., Sato, T., and Asahara, H. **PLoS ONE** 12, e0175673 (2017).
- (4) Activin-A enhances mTOR signaling to promote aberrant chondrogenesis in fibrodysplasia ossificans progressiva. Hino, K., Horigome, K., Nishio, M., Komura, S., Nagata, S., Zhao, C., Jin, Y., Kawakami, K., Yamada, Y., Ohta, A., Toguchida, J., and Ikeya, M. **The Journal of Clinical Investigation** 127, 3339-3352 (2017).
- (5) Preface to Vertebrate Brains: evolution, structures and functions. Kawakami, K., and Murakami, Y. **Development, Growth and Differentiation** 59(4), 160-162 (2017).
- (6) Transposons as tools for functional genomics in vertebrate models. Kawakami, K., Largaespada, D.A., and Ivics, Z. **Trends in Genetics** 33, 784-801 (2017).
- (7) Granule cells control recovery from classical conditioned fear responses in the zebrafish cerebellum. Matsuda, K., Yoshida, M., Kawakami, K., Hibi, M., and Shimizu, T. **Scientific reports** 7, 11865 (2017).
- (8) Structure/Function Studies of the $\alpha 4$ Subunit Reveal Evolutionary Loss of a GlyR Subtype Involved in Startle and Escape Responses. Leacock, S., Syed, P., James, V.M., Bode, A., Kawakami, K., Keramidis, A., Suster, M., Lynch, J.W., and Harvey, R.J. **Frontiers in Molecular Neuroscience** 11, 23 (2018).
- (9) *Wilms Tumor 1b* defines a wound-specific sheath cell subpopulation associated with notochord repair. Lopez-Baez, J.C., Simpson, D.J., Forero, L.L., Zeng, Z., Brunson, H., Salzano, A., Brombin, A., Wyatt, C., Rybski, W., Huitema, L.F.A., Dale, R.M., Kawakami, K., Englert, C., Chandra, T., Schulte-Merker, S., Hastie, N.D., and Patton, E.E. **eLife** 7, e30657 (2018).
- (10) A novel zebrafish intestinal tumor model reveals a role for *cyp7a1*-dependent tumor-liver crosstalk in tumor's adverse effects on host. Enya, S., Kawakami, K., Suzuki, Y., and

(学会発表(共同研究に関わるものを抜粋))

- (1) Tabuchi M, Kamezaki A, Sato F, Aoki K, Asakawa K, Kawakami K and Sehara-Fujisawa A., Visualization of Neuregulin 1 ectodomain shedding in motor neurons in zebrafish, Annual Meeting of the Japanese Society of Development Biologists, 東京, 2017.5.10-11.
- (2) 佐藤文規、Choi Minyong、王梓、岩瀬海里、今村聖実、堀内映美、内田智子、小林純也、高橋昭久、菅野純夫、鈴木穰、川上浩一、瀬原淳子. 宇宙滞在が骨格筋に及ぼす影響 – 重力負荷減少だけではなさそう？日本宇宙生物科学会第31回大会, 前橋, 2017.9.21.
- (3) Sato F, Choi M, Wang Z, Wu Q, Fujita I, Iwase M, Uchida S, Sakimura T, Kono Y, Shirakawa M, Tanigaki F, Chatani M, Kudo A, Takahashi A, Kobayashi J, Imamura K, Horiuchi T, Furukawa S, Muratani T, Suganos S, Suzuki U, Matsuzaki F, Kawakami K and Sehara-Fujisawa A., Studies on skeletal muscle regeneration and atrophy? What zebrafish experienced in a space tour. 第12回研究所ネットワーク国際シンポジウム, 東京, 2017.11.28
- (4) 佐藤文規、Choi Minyong、王梓、岩瀬海里、今村聖実、堀内映美、内田智子、谷垣文章、村谷匡史、小林純也、高橋昭久、菅野純夫、鈴木穰、川上浩一、瀬原淳子. 魚が宇宙で過ごすようになるの？ ～宇宙滞在実験の結果より～, 2017年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017), 神戸, 2017.12.7
- (5) Sato F, Choi M, Wang Z, Wu Q, Fujita I, Iwase M, Uchida S, Sakimura T, Kono Y, Shirakawa M, Tanigaki F, Chatani M, Kudo A, Takahashi A, Kobayashi J, Imamura K, Horiuchi T, Furukawa S, Muratani T, Suganos S, Suzuki U, Matsuzaki F, Kawakami K and Sehara-Fujisawa A., Studies on skeletal muscle atrophy in space – what zebrafish experienced in a space tour, CDB Symposium 2018, 神戸, 2018.3.26-28