

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 25 年 10 月 30 日現在

機関番号：82648
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2011～2013
課題番号：23700409
研究課題名（和文） 神経細胞の多様性を生み出すメカニズム—神経幹細胞の細胞系譜と分子機構の解明
研究課題名（英文） Generation of Multiple Classes of V0 Neurons in Zebrafish Spinal Cord: Progenitor Heterogeneity and Temporal Control of Neuronal Diversity

研究代表者 佐藤 千恵 (SATO, Chie)
大学共同利用機関法人 自然科学研究機構（岡崎共通研究施設）・岡崎統合バイオサイエンスセンター・特別協力研究員
研究者番号：50583241
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）3,400,000 円、（間接経費）1,020,000 円

研究成果の概要（和文）：形態、発火様式、伝達物質特性などを異にする神経細胞の多様性は、複雑な神経回路、様々な行動様式を生み出すため、極めて重要である。しかしながら、この多様性がどのようにプログラムされているのかに関しては、ほとんどわかっていない。本研究では、神経発生の初期メカニズムが、比較的明らかになってきている脊髄をモデルケースとして取り上げ、神経細胞の多様性が生まれるメカニズムを明らかにすることを目的とした。

研究成果の概要（英文）：The developing spinal cord is subdivided into distinct progenitor domains, each of which gives rise to different types of neurons. However, the developmental mechanisms responsible for generating neuronal diversity within a domain are not well understood. Here, we have studied zebrafish V0 neurons, those that derive from the p0 progenitor domain, to address this question. We find that all V0 neurons have commissural axons, but they can be divided into excitatory and inhibitory classes. V0 excitatory neurons (V0-e) can be further categorized into three groups based on their axonal trajectories; V0-eA (ascending), V0-eB (bifurcating), and V0-eD (descending) neurons. By using time-lapse imaging of p0 progenitors and their progeny, we show that inhibitory and excitatory neurons are produced from different progenitors. We also demonstrate that V0-eA neurons are produced from distinct progenitors, while V0-eB and V0-eD neurons are produced from common progenitors. We then use birth-date analysis to reveal that V0-eA, V0-eB, and V0-eD neurons arise in this order. By perturbing Notch signaling and accelerating neuronal differentiation, we predictably alter the generation of early born V0-e neurons at the expense of later born ones. These results suggest that multiple types of V0 neurons are produced by two distinct mechanisms; from heterogeneous p0 progenitors and from the same p0 progenitor, but in a time-dependent manner.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経科学一般

キーワード：ゼブラフィッシュ / 神経前駆体

1. 研究開始当初の背景

形態、発火様式、伝達物質特性などを異にする神経細胞の多様性は、複雑な神経回路、様々な行動様式を生み出すため、極めて重要である。しかしながら、この多様性がどのようにプログラムされているのかに関しては、ほとんどわかっていない。

2. 研究の目的

本研究では、神経発生の初期メカニズムが、比較的明らかになってきている脊髄をモデルケースとして取り上げ、神経細胞の多様性が生まれるメカニズムを明らかにすることを目的としている。

3. 研究の方法

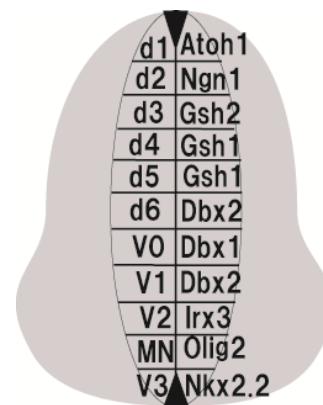
各神経細胞を可視化するトランスジェニッククゼブラフィッシュを作製し、タイムラプスイメージングを行うことで、各プロジェクターからどのような神経細胞が誕生するのか明らかにした。

4. 研究成果

脊髄では発生初期に転写因子がドメイン状に発現する。(図①)

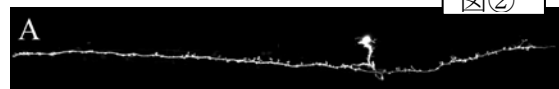
この転写因子の発現は、進化的に保存されており、各ドメインからは生物種を通して共通の特徴を持つ神経細胞が誕生する。

近年、各ドメインからは、従来考えられていたよりも、さらに多様な神経細胞が誕生することが明らかになってきており、ドメイン内での多様性生みだすメカニズムの解明が極めて重要な課題となっている。



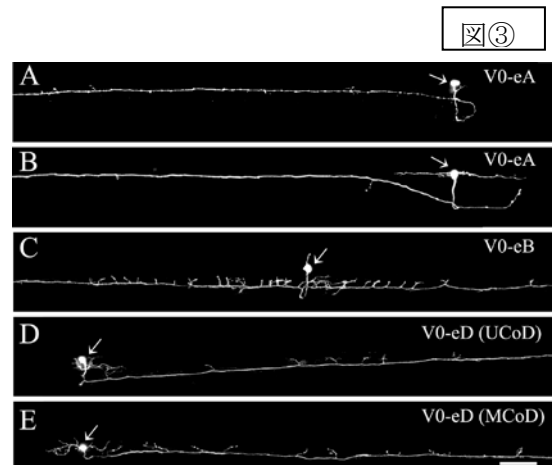
図①

現在、申請者は、交叉型神経を生み出すV0ドメインの神経幹細胞から1種類の抑制性細胞(図②)と、



図②

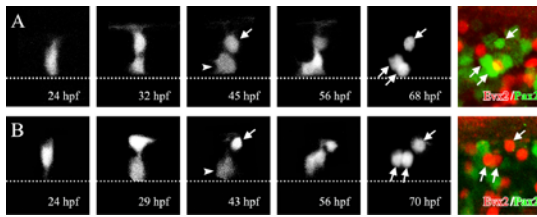
形態学的にも電気生理学的にも異なる3種類の興奮性細胞が誕生することを明らかにした。(図③)



図③

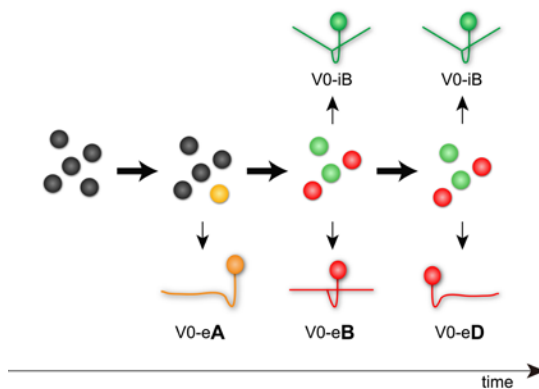
さらに、BrdUのパルスチェイス標識法によって、3種類の興奮性細胞それぞれは異なる固有の発生タイミングで誕生することを見出した。さらに、前駆体細胞を長時間in vivoタイムラプス観察を行い、前駆体によって生み出す神経細胞が異なり、p0前駆体細胞には多様性があることを見出した。(図④)

図④



以上の結果をまとめると図⑤の模式図のようになる。

図⑤



以上の結果をまとめ、論文として発表した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2件)

① Chie Satou, Yukiko Kimura, Hiromi Hirata, Maximiliano L. Suster, Koichi Kawakami and Shin-ichi Higashijima

Transgenic tools to characterize neuronal properties of discrete populations of zebrafish neurons

Development 2013, 140 [18]

査読あり

② Chie Satou, Yukiko Kimura and Shin-ichi Higashijima

Generation of Multiple Classes of V0

Neurons in Zebrafish Spinal Cord:

Progenitor Heterogeneity

and Temporal Control of Neuronal Diversity

J Neurosci. 2012, 32(5)

査読あり

[学会発表] (計 3件)

① Chie Satou, Yukiko Kimura and Shin-ichi Higashijima

The role of commissural inhibitory neurons in spinal cord for locomotion

36th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society,

2013.6. 20 Kyoto, Japan

② Chie Satou, Yukiko Kimura and Shin-ichi Higashijima

Heterogeneities in p0 progenitors and the temporal regulation of cell differentiation contribute to the generation of neuronal diversity in spinal V0 neurons

41th Annual Meeting of the Society for Neuroscience

2011.11. 13 Washington DC, USA

③ Chie Satou, Yukiko Kimura, Shin-ichi Higashijima

“Heterogeneities in p0 progenitors and the temporal regulation of cell differentiation contribute to the generation of neuronal diversity in spinal V0 neurons.”

2011.9.16 34th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Yokohama, Japan

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 千恵 （ SATO, Chie ）

大学共同利用機関法人 自然科学研究機構（岡崎共通研究施設）・岡崎統合バイオサイエンスセンター・特別協力研究員

研究者番号：50583241