

別紙 4

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

主 論 文 の 要 旨

論文題目 Neuronal Circuits That Control Rhythmic Pectoral Fin
Movements in Zebrafish

ゼブラフィッシュにおける胸びれリズム運動を制御する神経回路の解析

氏 名 植村 悠人

論 文 内 容 の 要 旨

陸上を移動する多くの四足脊椎動物は、歩行を行う為に左右の四肢を協調させて動かしている。そして四肢は歩行に必要な運動を適切に行う為に、多数の屈筋と伸筋を協調させて動かしている。この歩行運動は生存に必須で基本的な運動であり、100年以上研究されている。筋肉を適切なタイミングで適切に協調させる基本的な仕組みは、**Central Pattern Generators (CPG)** と呼ばれる脊髄内の神経回路であると示されている。また、分子遺伝学の発達により、特定の性質を持つニューロン群を可視化や、破壊、活動制御が可能になった。技術の発達に従ってマウスを中心に **CPG** を構成する様々なニューロン群について研究が進んだ。しかしながら哺乳類の脊髄内 **CPG** の神経回路の詳細な構造や活動パターンは完全には解明できていない。

哺乳類の脊髄内 **CPG** の解明が難航している理由は主に3つある。1つは哺乳類の四肢の複雑な構造である。哺乳類の四肢は多数の関節と多くの筋肉で構成されており、四肢を滑らかに動かす為にそれぞれの筋肉が少しずつ異なるタイミングで収縮する。その為、四肢の筋肉を制御する神経回路は非常に複雑であると考えられる。2つ目の理由は哺乳類が示す運動が複雑な点である。哺乳類は様々な感覚系からのフィードバックを受け運動を調整する、単純で一定の強度の運動以外の運動も行う、という性質があるため解析が困難である。最後は哺乳類の脊髄の大きさが非常に大きい点である。これにより脊髄内のニューロン数が多いことに加え、脊髄内回路を保った状態で特定のニューロン群を狙って電気生理実験やカルシウムイメージングを行うことが難しい。

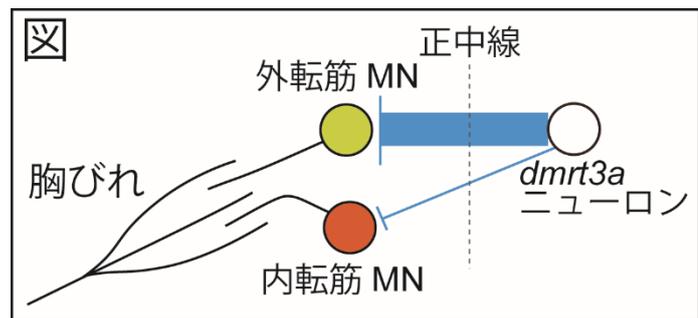
私は進化的に前肢の相同器官であるゼブラフィッシュの胸びれを対象にして、付属肢（脚、翼、ひれ等）の協調を制御する神経回路メカニズムの解明を目指した。ゼブラフィッシュ稚魚の胸びれは外転筋と内転筋の2種類の筋肉だけで構成され、体幹の遊泳に合わせて左右の胸びれを交互に開閉する運動を行う。胸びれの運動はこのように非常に、

単純なモデルでありながら、外転筋-内転筋の協調（屈筋-伸筋の協調に相当する）や左右の協調を示す。以上のことから、ゼブラフィッシュ稚魚の胸びれは四足動物と共通する基本的な付属肢協調の制御メカニズムを解明するための理想的なモデルとなる可能性がある。

本研究では多様な遺伝子組換えゼブラフィッシュを利用して、胸びれリズム運動を制御する神経回路を詳細に調べた。まず、外転筋運動神経細胞（外転筋 MN）と内転筋運動神経細胞（内転筋 MN）が遊泳中に特定のタイミングで交互に発火していることを示した。次に、どちらの MN においても、発火するタイミングで興奮性入力を受け、発火しないタイミングで抑制性入力を受けていることを明らかにした。続いて、これらの入力を行う脊髄内の介在ニューロンを探した。私は *dmrt3a* 遺伝子が発現するニューロン（*dmrt3a* ニューロン）が反対側の外転筋 MN に選択的に抑制性シナプス結合を持つことを示した。さらに胸びれ周辺の脊髄内で *dmrt3a* ニューロンを破壊することで、外転筋 MN の発火タイミングが変化し、外転筋 MN が受ける抑制性入力も変化することを示した。以上から、MN は上流の介在ニューロンから周期的な興奮性入力と抑制性入力を受け、その組み合わせによって適切なタイミングで発火すると示唆される。そして脊髄内介在ニューロンの 1 つである *dmrt3a* ニューロンが特定のタイミングで外転筋 MN への抑制性入力を行い、外転筋 MN の発火タイミングの制御に重要であることを強く示唆する証拠を示した。

本研究では非常に単純な付属肢のモデルであるゼブラフィッシュ稚魚の胸びれを用いて、MN の発火タイミングと MN が受けるシナプス入力を明らかにした。さらに、上流の介在ニューロンの一群が外転筋 MN に選択的なシナプス結合を持ち、外転筋 MN の発火制御に重要であることを明らかにした（図）。脊髄内で発現する

転写因子群は発現パターンが脊椎動物間で広く保存されており、哺乳類の脊髄内では *dmrt3a* の相同な遺伝子である *dmrt3* が発現する。哺乳類の *dmrt3* が発現するニューロンはゼブラフィッ



シユの *dmrt3a* ニューロンと同様に、交差性、抑制性のニューロンで、四肢の運動制御に関与することが知られている。しかしながらこのニューロン群が歩行運動中に神経回路内で果たす具体的な役割は明らかになっていない。単純でありながら脊椎動物の四肢と多くの共通点を持つゼブラフィッシュ稚魚の胸びれを研究することで、今まで解明できなかった付属肢の協調を制御する基本的な神経回路メカニズムの解明が進むと期待できる。