

氏 名 川野 幸平

学位(専攻分野) 博士(理学)

学位記番号 総研大甲第 2381 号

学位授与の日付 2022 年 12 月 31 日

学位授与の要件 生命科学研究科 基礎生物学専攻
学位規則第6条第1項該当

学位論文題目 ゼブラフィッシュ仔魚における長距離下降性交連性 V0v ニュー
ーロンは体軸方向の協調性遊泳運動を担う

論文審査委員 主 査 椎名 伸之
基礎生物学専攻 准教授
東島 眞一
基礎生物学専攻 教授
藤森 俊彦
基礎生物学専攻 教授
日比 正彦
名古屋大学 大学院理学研究科 教授

(様式3)

博士論文の要旨

氏名 川野 幸平

論文題目 ゼブラフィッシュ仔魚における長距離下降性交連性 V0v ニューロンは体軸方向の協調性遊泳運動を担う

(Long descending commissural V0v neurons ensure coordinated swimming movements along the body axis in larval zebrafish)

Locomotion is essential for survival in animals: animals need to move for the purposes of foraging, reproduction, exploration, escape, etc. Previous studies have shown that the locomotor central pattern generator (CPG), which are the neural circuits that generate basic patterns of movement during locomotion such as walking and swimming, reside in the spinal cord. To elucidate the neuronal identity and circuit organization in the locomotor CPG, specific groups of neurons have been labeled by transgenic techniques. Differentiation, morphology, and functional roles during locomotion have been investigated. However, detailed structures and activity patterns of the mammalian locomotor CPG have not been fully understood. This is due to the complexity of limbed locomotion in mammals and the large size of the mammalian spinal cord which has a large number of spinal neurons.

Larval zebrafish is a good vertebrate model for detailed analysis of the locomotor CPG. The advantages of using larval zebrafish are that, compared to mammals, its spinal cord is smaller, translucent, and has fewer neurons. This enables cell ablation using a short-pulse laser, as well as recording neuronal activities in a live animal. In addition, the expression patterns of transcription factors in the spinal cord are largely conserved among vertebrates, and thus, findings in larval zebrafish are expected to contribute to our understanding of spinal neuronal circuits in other vertebrates.

Swimming kinetics matures during the early larval stages in zebrafish. At 2 days post-fertilization [dpf], larval zebrafish swim with a large head swing in the yaw direction during both slow and fast swimming. In contrast, after 4 dpf, the head is stable with little movement in the yaw direction during slow swimming. This is thought to be important for stabilizing the gaze and reducing resistance in the water. To minimize the head swing in the yaw direction, the moment of force around the center of mass needs to be minimized. To achieve this, the body shape during swimming should be an S-shaped (i.e., the diagonal body parts [the rostral body on one side and the caudal body on the opposite side] bend almost at the same timing) but not be a C-shaped (i.e., only one side of the body bends).

In this study, I focused on MCoD neurons as a candidate neuronal population that coordinates trunk muscles in the diagonal dimension. MCoD neurons are one of the V0v neuron subtypes that differentiate from the p0 progenitor domain at 3 dpf. They are excitatory, rhythmically active during slow swimming, and have long descending commissural axons that innervate motoneurons in the caudal spinal cord. Based on these neuronal characteristics, the temporal correlation between the differentiation timing of the MCoD neurons, and the maturation of slow swimming between 2 dpf and 4 dpf, I hypothesized that the MCoD neurons are a strong candidate that enables coordinated trunk movements during slow swimming.

I examined whether the MCoD neurons are involved in coordinated diagonal trunk movements. First, I used multiphoton microscopy to ablate the MCoD neurons and captured images using a high-speed camera to analyze the head yaw angle during slow swimming. In addition, kinetic parameters such as occurrence frequency of swim bouts, swim bout duration, swim speed, and tail beat frequency were measured.

MCoD-ablated fish showed a 3- to 4-fold increase in head yaw angle during slow swimming compared to non-ablated fish. Thus, MCoD neurons contributed to the stability of the head in the yaw direction during slow swimming. Furthermore, the

occurrence frequency of S- and C-shaped bodies during slow swimming was also analyzed. In the MCoD-ablated fish, the occurrence frequency of the S-shaped bends during slow swimming decreased while that of the C-shaped bends increased. These results revealed that the MCoD neurons play an important role in coordinating diagonal interlimb movements of the trunk during slow swimming.

In mice, long descending commissural V0v neurons are involved in diagonal interlimb coordination during walking. Together with this, the present study suggests that the long-distance descending commissural V0v neurons form an evolutionarily conserved pathway in the spinal locomotor circuits that coordinates the movements of the diagonal body/limb muscles.

博士論文審査結果

Name in Full
氏名 川野 幸平Title
論文題目 ゼブラフィッシュ仔魚における長距離下降性交連性 V0v ニューロンは体軸方向の協調性遊泳運動を担う

脊椎動物の脊髄においては、その発生時において発現する転写因子の発現パターンは種を超えて共通であり、これは、足を持たない魚類の脊髄神経回路は、ほ乳類のその回路の原型である可能性を示唆している。体の前後軸の遠く離れた部分（たとえば、歩行運動においては、前足と後ろ足）を協調させて運動させることは、四足歩行動物、および魚類においても、スムーズな行動を作るうえで、普遍的に重要である。哺乳類を用いた研究においては、脊髄内神経回路の詳細な解析に技術的な制約が大きいことから、より単純な神経回路を持つ魚類、特にゼブラフィッシュ仔魚が、脊髄運動系神経回路解析の重要なモデル生物として用いられるようになってきている。このような背景のもと、川野さんは、長距離下降性交連性 V0v ニューロンのサブタイプである MCoD ニューロンの遊泳運動における機能解析に取り組んだ。以下、川野さんの研究成果の概略を記す。

ゼブラフィッシュ仔魚の自発的遊泳運動においては、頭は左右にほとんど揺れない。仔魚の重心は、胴体部分のもっとも前方付近に位置しており、頭を揺らさないためには、遊泳時に胴体部分の動きが重心に与えるヨー方向（重心の上下を貫く軸を中心とした回転方向）のトルクを最小の状態に保つ必要がある。このためには、胴体前方部と後方部の屈曲を高度に協調させる必要があると考えられる。川野さんは、この協調された遊泳運動の生成には、脊髄内に存在する MCoD ニューロンが重要な役割を果たすと考えた。その理由として、MCoD ニューロンは長軸方向に長い軸索をもつ交叉性の興奮性ニューロンであり、長軸の斜め方向（たとえば、右前と左後ろ）の活動を協調させるのに最適の形態的特徴をもつからである。この考えを証明するため、川野さんは MCoD ニューロンをレーザー破壊し、得られた仔魚の遊泳運動を高速度カメラで解析した。その結果、MCoD ニューロン破壊仔魚では、遊泳運動の S 字状屈曲パターンが乱れ、また、頭部が左右方向に顕著に揺れ動く表現型を示した。また、電気生理学的解析を行い、MCoD ニューロン破壊仔魚では、前方部と後方部の運動ニューロンの活動の協調関係が著しく乱れるということを明らかにした。これらの実験結果は、MCoD ニューロンが、遊泳運動において胴体の前方部と後方部の運動を協調させることにより、頭部を安定させて遊泳運動を行うためにきわめて重要な役割を果たしていることを示した。

哺乳類においても、長距離下降性交連性 V0v ニューロンが前肢と後肢の斜め方向（たとえば、右前肢と左後肢）の協調に重要であることが示唆されている。したがって、川野さんの研究は、魚類の脊髄内神経回路の詳細を明らかにしただけではなく、脊椎動物脊髄内神経回路の進化を考えるうえで重要なヒントを与えるものである。これらの観点より、本論文は同分野における重要な貢献であり、学位授与にふさわしいものであると審査委員全員が一致して結論した。