

## 研究成果報告書

研究テーマ (和文)	多様な腸神経細胞の形成・特異化に関わる転写因子コードの解明		
研究テーマ (英文)	Revealing “transcription-factor codes” regulating differentiation of neuronal subtypes in the enteric nervous system.		
研究期間	2018年～2020年	研究機関名 兵庫県立大学大学院生命理学研究科	
研究代表者	氏名	(漢字)	二階堂 昌孝
		(カタカナ)	ニカイドウ マサタカ
		(英文)	Nikaido Masataka
	所属機関・職名	兵庫県立大学大学院生命理学研究科・准教授	
共同研究者 (1名をこえる場合は、別紙追加用紙へ)	氏名	(漢字)	
		(カタカナ)	
		(英文)	
	所属機関・職名		

概要 (600字～800字程度にまとめてください。)

本研究計画では、RNA-seq を主な方法として、腸神経細胞分化において、Sox10 陽性と思われる前駆細胞の未分化状態の維持や、そこからの神経分化に関わると考えられる遺伝子を単離することを目的とした。これによって、腸神経細胞の分化制御に関わる遺伝子機構を理解し、さらには中枢神経系の神経分化と比較検討することを目指している。

当初、受精後5日と成体の腸神経細胞の比較を考えていたが、新たに、腸神経細胞とその前駆細胞を蛍光でマークできる遺伝子導入魚を入手したため、RNA-seq は受精後5日に、この細胞群と、別の遺伝子導入魚から得た分化後の神経細胞を比較する形で行なった。本研究で着目する腸神経前駆細胞の未分化状態に関わる遺伝子や、腸神経細胞の分化過程に関わる遺伝子は腸神経細胞とその前駆細胞に強く発現する可能性が高い。RNA-seq の結果、実際にこちらに強く発現する遺伝子群をリストアップすることができた。エンリッチメント解析では代謝系の遺伝子が多く、この細胞群がまだ分裂過程にあることを考えると、正しい遺伝子セットが得られたと考えている。今後当初の計画に則って、このリストから新規転写因子を中心に単離と機能解析を進める計画である。また、別に行なった受精後5日と成体の腸に対する RNA-seq では、これまで明確にならなかった、幼生期の腸の興奮性の神経伝達物質としてタキキニンを見出し、腸での発現も in situ hybridization で確認した。これに対するノックアウトによる機能解析を進める。

一方、新たに単離する未分化状態維持や神経分化に関わる遺伝子の機能を探る上で、通常発生だけでなく、腸神経細胞の再生実験系を確立できれば、近年の再生医療研究の高まりも鑑みて有利と考え、ゼブラフィッシュの幼生を使って検証を行った。その結果、ゼブラフィッシュの幼生の腸神経系は高い再生能力があることがわかり、その再生過程を詳細に記載して論文とした。

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）						
雑誌	論文課題	The enteric nervous system in zebrafish larvae can regenerate via migration into the ablated area and proliferation of neural crest-derived cells				
	著者名	Ohno, M. Nikaido, M. Horiuchi, N. Kawakami, K. and Hatta, K.	雑誌名	Development		
	ページ	1～9	発行年	2 0 2 1	巻号	148(2)
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ページ	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ページ	

英文抄録（100語～200語程度にまとめてください。）

In this study, we aimed to isolate genes involved in the maintenance of the undifferentiated state of the enteric neuron precursor cells and the neuronal differentiation from them in order to understand the genetic mechanisms for the enteric neuron differentiation and, then to compare them with those of the central nervous system development.

We found genes expressed in the enteric neuron precursors in zebrafish with RNA-seq analysis at 5-day post-fertilization. The enrichment analysis showed a large number of metabolic genes in them, consistent with that the precursor cells are in the process of division. In the future, we plan to analyze the functions of novel transcription factors selected from these genes in accordance with our original plan. We also found tachykinin as an excitatory neurotransmitter by RNA-seq of 5-day post-fertilization and adult intestines, and confirmed its expression in the intestine by in situ hybridization. We will proceed its functional analysis by knockout.

On the other hand, we thought it would be advantageous to establish an experimental system for regeneration study of the enteric neurons in order to investigate the functions of newly isolated genes in this study. We found that the enteric nervous system of zebrafish larvae had a high regenerative capacity, and published the regeneration process in the research paper.

共同研究者	氏名	(漢字)		
		(カタカナ)		
		(英文)		
	所属機関・職名			
	氏名	(漢字)		
		(カタカナ)		
		(英文)		
	所属機関・職名			
	氏名	(漢字)		
		(カタカナ)		
		(英文)		
	所属機関・職名			
	氏名	(漢字)		
		(カタカナ)		
		(英文)		
	所属機関・職名			
	氏名	(漢字)		
		(カタカナ)		
		(英文)		
	所属機関・職名			
	氏名	(漢字)		
		(カタカナ)		
		(英文)		
	所属機関・職名			
氏名	(漢字)			
	(カタカナ)			
	(英文)			
所属機関・職名				
氏名	(漢字)			
	(カタカナ)			
	(英文)			
所属機関・職名				
氏名	(漢字)			
	(カタカナ)			
	(英文)			
所属機関・職名				