「生命システムの動作原理と基盤技術」
平成 18 年度採択研究代表者

森　郁恵

（名古屋大学大学院理学研究科　教授）

「行動を規定する神経回路システム動態の研究」

1. 研究実施の概要

認識、記憶、学習といった行為や行動を決める脳内情報処理のメカニズムを包括的に理解することは、現在の神経科学において、最重要課題の１つである。本研究では、行動の可塑性を最も直接的に観察できる線虫 C. elegans の温度走性に着目し、この行動を規定する神経回路を１つのシステムとして捉え、実験科学と理論科学を融合させた総合的機能解析を行うことによって、記憶や学習の根幹となる神経ネットワーク機能を理解することを目的とする。目標の達成に向けて、現段階においては、温度変化に依存した神経活動変化のカルシウムイメージングの実施と技術開発、および、温度勾配上における線虫個体の行動を追尾するシステムの開発に着手している。さらに、温度走性の神経回路動態のコンピュータシミュレーションによる in silico 再構築を目指して準備を進めている。本研究を進めることにより、神経科学における新技術が創出され、新概念を提言することを期待している。

2. 研究実施内容

（１）温度変化に依存した神経活動変化のカルシウムイメージングの実施と技術開発

温度走性神経回路の活動のコンピュータシミュレーションを行う上で、回路を構成する個々のニューロンの活動状態の計測は極めて重要である。C. elegans の温度走性研究の最大の利点は、温度刺激の入力場所である感覚ニューロンから、その情報の処理や統合を行い、走性行動に反映させる介在ニューロンに至るまで、１つの行動を支配する神経回路が明らかにされている点にある。本研究において、温度走性行動を司るすべてのニューロンの活動状態を計測し、どのような動作原理によって神経回路が働くかを明らかにする。当研究室では、すでに、カルシウムイメージング法を用いて、C. elegans の主要な温度受容ニューロンである AFD の活動状態の測定に成功している（Kimura et al. 2004)。近年、分子遺伝学的解析により、従来、嗅覚ニューロンとして知られていた AWC 感覚ニューロンが、未知であったもう一つの温度受容ニューロン X であることが明らかになり、平成 18 年度において、AWC 嗅覚/温度受容ニューロンの温度に対する応答性のカルシウムイメージングに

成功し、AFD と AWC 温度受容ニューロンの温度に対する応答性の違いが明らかになった(Kuhara, Okumura et al., unpublished)。これまでの研究から、温度の入力場所である感覚ニューロン AFD と AWC の活動状態が明らかになってきたため、次の課題として、温度受容ニューロンの下流の介在ニューロン AIY と AIZ、さらにそれらの情報の統合処理に重要な介在ニューロン RIA の活動状態を明らかにすることが重要であった。そこで、温度走性神経回路中の介在ニューロン AIZ と RIA の活動測定を行ない、応答性も明らかにした(Kuhara & Mori, 2006; Kodama et al., 2006)。

コンピュータシミュレーションによる温度走性の in silico 再構築を行うためには、温度走性神経回路の活動を個々のニューロンの活動として測定するだけでなく、複数のニューロンの活動を同時に測定し、神経回路全体の動態としてとらえることが必要である。そのために、複数のニューロンの活動を同時に測定する多点イメージングシステム(顕微鏡システム)を開発し、複数ニューロンの同時活動測定を行なうための準備を開始した。温度走性神経回路のニューロンの活動状態が明らかにできれば、それらをパラメーターとして、神経回路活動のコンピュータシミュレーションを行なうことが可能となり、さらに、これらのデータはコンピュータシミュレーションで立案したモデルを、評価、修正する上でも極めて重要である。

（２）温度勾配上における線虫個体の行動を追尾するシステムの開発

温度走性神経回路においてすべての温度情報は、RIA 介在ニューロンに統合されている。RIA 介在ニューロンは SMD, RMD モーターニューロンとシナプス接続している。興味深いことに SMD, RMD モーターニューロンは、C. elegans の首振りを制御する筋肉に軸索を投射している。このことから、C. elegans の温度走性の成立には、頭部首振りによる周辺温度の感知と、それによる移動角度の変化が重要であると予想される。従って、温度走性行動のアウトプット(行動)の数値化に向け、まず、温度刺激による首振り頻度と角度の変化をコンピューター処理により数値化することを行っている。温度走性時の C. elegans の首振り運動を数値化するためには、まず、温度走性時の線虫個体の行動を追尾し、画像として記録するための顕微鏡／コンピューターシステムが必要である。現在、これらのシステムを開発中である。また、温度勾配上での線虫行動の追尾システムも開発中である。

（３）温度受容機構の分子遺伝学的解析

温度受容体分子の同定は、刺激が入力する分子の特性を理解することであり、C. elegans の温度走性を規定する神経回路システム動態研究を進める上で、重要な目標の１つである。現在までの分子遺伝学的研究により、AFD 温度受容ニューロンにおいて cGMP 依存性チャネル TAX-2 と TAX-4、cGMP 産生酵素であるグアニル酸シクラーゼ GCY-8,GCY-18,GCY-23 が温度受容に必須の分子であることが示されている(Komatsu et al., 1996, Inada et al., 2006)。

またAWC温度、嗅覚受容ニューロンにおいてGタンパク質の負の制御因子RGS が温度受容に重要な役割を果たしている(Okumura et al., unpublished)。しかしながら、現在に至るまで温度受容体をコードする分子は未同定のままである。AWCあるいはAFDにおける温度受容には、Gタンパク質を介しcGMPをセカンドメッセンジャーとする経路が必須であり、これは哺乳類の視細胞、嗅細胞、C. elegansの嗅細胞で起こるシグナル伝達経路に極めて類似している可能性がある。これらの感覚システムとの比較から、七回膜貫通タンパク質(GPCR)がC. elegansの温度受容体分子として機能している可能性が高い。

B0496.5遺伝子は、AFDとAWCで特異的に発現し、いずれのニューロンにおいても、外界の温度を受容する神経末端に局在していることから(Colosimo et al., 2004)、温度受容体の有力な候補となる。B0496.5遺伝子の機能を解析する目的で、欠失部位が異なる二つの独立な遺伝子破壊株 *nj62* および nj63 変異体を作製した。いずれの変異体も、その欠失部位からnull変異体であると推測された。同心円上に温度勾配を作製したプレート上での行動テストにおいて、*nj62*変異体および*nj63*変異体は、ともに飼育温度よりやや低温域で等温線上を移動する異常を示し、少数の個体は温度勾配に対してランダムに移動する温度無走性異常を示した。また直線上の温度勾配装置を用いた集団温度走性テストにおいて、*nj62*、*nj63*変異体は、20℃または23℃で飼育したとき、ともに野生型に比べて飼育温度より低温域に分布した (Sasakura et al., unpublished)。今後は、温度走性行動異常表現型のレスキュー実験、さらに詳細な行動解析を行う予定である。また、B0496.5遺伝子が温度に応答するか、より直接的に証明するために heterogenous な実験系を用いて検討する。アフリカツメガエル卵母細胞、または培養細胞において、B0496.5遺伝子のcDNAを発現させ、異なる温度、あるいは、温度変化に対して、どのように応答するか検証する予定である。

3. 研究実施体制

(1)「森」グループ

①研究分担グループ長:森　郁恵(名古屋大学大学院　教授)

②研究項目

・行動を規定する神経回路システム動態の研究