

課題名 ショウジョウバエ脳神経回路の徹底解析にもとづく感覚情報処理モデルの構築

代表研究者 東京大学分子細胞生物学研究所 助教授 伊藤 啓

1. 代表研究者による成果概要報告

1-1. 研究目的

本研究では、感覚情報処理系と高次統合処理回路の間を結ぶ高次情報回路の構造の解析と、細胞の位置だけでなく回路の投射構造を自動解析するソフトウェア手法の開発を目的とし、神経解剖学や神経生理学によって単一細胞レベルから神経回路の構造と機能を調べてゆくボトムアップ型アプローチと、神経回路の実体をいったん離れ、回路が持つべき構造や果たすべき機能をコンピュータシミュレーションなどによって情報科学的に推理するトップダウン型アプローチを強力に連携させるため、以下の基本方針にもとづくプロジェクトを計画した。

- 現在の生物科学の技術では複雑膨大な高等生物の脳全体を体系的に解析できない以上、発想を変えて、現状でも脳全体を解析できる程度にシンプルな脳システムをもつショウジョウバエを対象に用いる。
- 従来のように神経細胞を解剖学的、生理学的に解析するだけでなく、細胞体の位置、線維の投射パターン、伝達物質と受容体、発現している主な遺伝子、他の細胞との接続状況などを総合的に記録したデータベースを構築する。これに基づいて、概念図レベルでなく実際の神経接続状況をなるべく忠実に反映した回路図を生成し、情報科学的解析やシミュレーションに利用しやすい形で提供する。
- 従来のように高度にモデル化（抽象化）した仮想回路でなく、こうして明らかになった現実の神経回路に密着したトップダウン型解析を行なう。
- 解析にあたっては、魅力的だが解析が難しい高度な脳機能にいきなり挑むのではなく、地味だが神経回路の動作を本質的に理解するための基本となるような、比較的低次の脳機能を十分に理解することを目標とする。現実の回路図をもとに、入力に対してどの細胞がどのように動作するかを考え、回路の振る舞いをシミュレーションする。さらに特定の細胞を選択的に除去・機能阻害したり、特定の伝達物質の機能を薬理的に阻害した場合にどのような回路動作の異常が生じるかを予測し、個体の行動実験や神経細胞活性の光学計測などによって実験的に検証する。このような「回路解析→回路動作予測→実験による検証」という総合的アプローチが現時点で可能なレベルの、基本的な脳機能の解析を優先する。

1-2. 研究開発概要

- 脳のマップシステムの確立

個々の神経が脳のどこからどこに投射し、どこに樹状突起や軸索分枝を形成するのかをきめ細か

に解析するためには、脳内の微小な領域を区別して一義的に指し示す詳細なマップシステムが確立していることが不可欠な大前提になる。哺乳類の脳では皮質領野や神経核のレベルで脳のマップが定められ、広く利用されているが、ショウジョウバエの脳は哺乳類脳の1つの神経核よりもはるかに小さく、その内部は神経線維が一見無秩序に見えるほど複雑に錯綜している。このため、視葉・触角葉・キノコ体・中心複合体などごく一部の部分を除き、脳内の細かな領域はこれまで厳密には定義されていなかった。そこで我々は、グリア細胞による仕切り構造と、容易に同定可能なランドマークになる脳構造とを指標にして、脳本体を16の小領域に分割するマップ法を定義した（上図）。

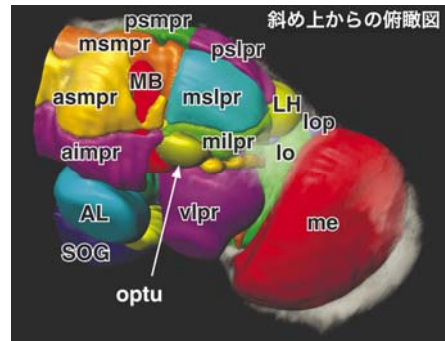


図. 脳の領域マップ

- 視覚系の情報経路解析

ショウジョウバエの視覚系には、左右の複眼にある約800個の個眼に各8個の光受容細胞が存在する。低次中枢である視葉には個眼に対応した800のコラム構造があり、シンプルな繰り返し構造で神経回路構造の解析が比較的容易なため、これまで詳しく調べられてきた。しかしそこから脳本体にある高次中枢に投射する神経の構造は、ほとんど未知であった。そこで、これらの投射神経を特徴的にラベルするGAL4エンハンサートラップシステムを詳細に比較し、合計44種類の視覚投射神経を同定した。

- 嗅覚系の情報経路解析

匂いの認知とは、刺激された嗅覚細胞の組み合わせを知ることには他ならない。嗅覚細胞と低次中枢の糸球体の1対1の対応関係を考えると、このプロセスは「どの糸球体の活動が活発化しているかを脳の高次領域が検出すること」に置き換えられる。このために必要な神経回路を理解することが、嗅覚系情報経路解析の目的である。そこで、まず触角葉内部の神経回路の構造を解析した。

- 聴覚系の情報経路解析

ショウジョウバエの聴覚器官である触角基部のジョンストン器官内部における聴覚神経の構造を三次元的に解析した。

- 味覚系の情報経路解析

昆虫は脚や産卵管の先など様々な場所に味覚細胞を持つが、主要な味覚感覚器は口吻の先端に集中している。ここには水や塩や糖分を検知する様々な味覚細胞が分布し、食道下神経節に投射する。クローニングされた味覚レセプター遺伝子を利用していくつかの味覚神経の投射パターンが解析されているが、全貌の理解にはほど遠い。そこで口吻部の味覚細胞を特異的にラベルするGAL4システムをスクリーニングして解析した。

- 回路形成過程の動的解析

シンプルな繰り返し構造を持つ低次中枢に比べ、高次中枢の神経回路は一見極めて複雑である。このような構造を体系的に理解するために、単純な構造の幼虫脳から複雑な成虫脳へと回路が変貌する課程を経時的に解析した。まず、蛹期の全過程にわたって脳の外形と神経回路部の形

態変化を追跡し、低次中枢と高次中枢の間や、高次中枢間を結ぶ種々の神経束の構造変化を追った。

1-3. 研究成果概要

● 脳のマップシステムの確立

従来から一部で用いられていたマップをベースに、あいまいだった各領域の境界を明確に定義し、それぞれの領域をさらに細かく分割した。これによって、異なる GAL4 系統や抗体などでラベルされた様々な神経の投射部位を統一的な方法で記録できるようになり、回路構造の比較が容易になった。

● 視覚系の情報経路解析

同定した 44 種類の視覚投射神経は、低次視覚中枢において視野の狭い範囲に相当する一部分のみに投射する神経が多数集まって束になった「コラム型」構造の回路と、視野全体に接線状に投射する少数の神経から構成される「接線型」構造の回路に分けられる。ラベルされた各神経におけるシナプス小胞の局在を特異的に可視化して、その分布を解析した結果、コラム型回路はすべて、出力シナプスが高次中枢側にある求心性経路だったのに対し、接線型回路では半数以上が、出力シナプスが低次中枢側にある遠心性経路であった。これら遠心性経路は、高次中枢が低次中枢の作動を修飾するための制御経路になっていると推測される。

● 嗅覚系の情報経路解析

触角葉には、嗅細胞から投射する軸索以外に、局所神経と投射神経の樹状突起が存在する。これらの細胞を特異的にラベルする GAL4 系統をスクリーニングして解析した結果、局所神経には、各系球体の中心部のみに投射するタイプと中心から辺縁まで広く投射するタイプの 2 種類があることが分かった。また、個々の局所神経は系球体のうちの過半数に広く投射していた。一方、投射神経には単一の系球体のみに樹状突起を持つ単系球体性のものと、多数の系球体に樹状突起を広げる多系球体性のものがあった。単系球体性の神経はほとんどがキノコ体と側角という 2 つの嗅覚 2 次中枢に投射するのに対し、多系球体性の神経はこれら以外の多くの脳領域に投射していた。また、キノコ体は単系球体神経からの投射しか受けていないのに対し、側角には単系球体と多系球体性神経の投射が共存していた。このようにして分割収斂して送られた情報の取り扱い、2 つの中枢の間で異なっていた。すなわちキノコ体では、2 次中枢の神経群はこれらのゾーンをまたいで全体を覆う形で投射しており、嗅覚情報の全体を広く統合することができる構造になっていた。一方側角の 2 次中枢神経群は、どれも投射が単一のゾーンの中だけに限られ、軸索の他端もゾーンごとに脳の異なる高次領域に投射していた。つまり側角を介する経路では、嗅細胞や系球体の機能グループの情報は、さらに高次の中枢に至るまで分離して取り扱われる回路構造になっていた。

● 聴覚系の情報経路解析

解析の結果、音受容時の聴覚器官振動の支点を頂点として、約 500 個の聴覚神経細胞体がお椀状に分布することを発見した。次にこれら細胞体から脳への軸索投射を解析した結果、1 次聴覚中枢は脳本体の中で触角機械感覚野と呼ばれる領域のほぼ全域、vlpr と呼ばれる前大脳領域の一部、および食道下神経節の一部にわたって分布している事が分かった。この領域は少なくとも 5 つのゾー

ンに分かれており、それらのゾーンはさらに 19 個のサブエリアに分かれていた。個々の聴覚神経は、特定のゾーンのみで情報を伝達しており、細胞体の位置と投射するゾーンの間には、厳密な相関マップが存在していた。

- 味覚系の情報経路解析

従来知られているより外側にも投射神経の終末が存在することが分かった。また、1 次味覚中枢に 6 つの領域を同定し、それらの組み合わせで合計 26 種類もの異なる投射パターンが見つかった。

- 回路形成過程の動的解析

約 96 時間の蛹期のうち、主要な形態変化は最初の 24 時間に起きることが分かり、この間の複雑な形態変化を記録した。次に、中心複合体に特に着目して、回路形成過程を解析した。この領域は、キノコ体と並んで感覚情報が集中する主要な高次統合中枢と目されており、脳の中央に位置している各感覚経路の投射神経が周囲を取り巻くように走っているにもかかわらず、これまで回路の形成過程が全く分かっていなかった。成虫から逆に発生段階を遡りながら構造を追った結果、幼虫脳における中心複合体の前駆構造を発見し、それを中心に回路が形成される過程を明らかにした。

2. 事後評価結果

2-1. 当初計画の達成度

○当初の研究開発計画から見た達成度等はどうか

脳神経回路の視覚、嗅覚、聴覚、味覚の 4 情報処理系経路を地道に解析し、脳内神経回路の総合的理解を高めることができた意義は大きい。ただし、計画に書かれているシミュレーションを行うにはいたらなかった。

○当初計画では想定されていなかった新たな展開が生じたか

脳神経細胞数が想定されたよりもはるかに少なかったことやグリア細胞の役割の大きさ、キノコ体の役割など、当初には予想されていなかったことが明らかにされた。これらは、現段階までの研究展開に大きな影響は与えなかったにしても、今後に向けて望ましい展開となることが期待される。

2-2. 知的財産権、外部発表（論文等）等研究開発成果の状況

共著も含めて論文発表は優れている。今後も当課題の成果が論文として発表されていくようだが、なるべく早く公開されることが望ましい。

2-3. 研究開発成果の公開による波及効果

○データベース・プログラムや論文、学会発表など、これまでの成果公開によるバイオインフォマティクス領域およびライフサイエンス分野全体への影響や効果はどうか。

脳神経における情報経路の完全な解明には今後膨大な労力と時間が必要であることから見れば、本研究は発展途上であり、今後により大きなインパクトが出てくると期待する。ただし、現在得られている回路情報のデータは論文による公開のみではなく、早急にデータベース化して公開される

べきであり、その公開によって真に分野への影響や効果があるかどうか評価できる。

○国内外の類似研究開発の動向と比較して本課題の意義はどうか。

ここまで徹底して、しかも複数の感覚モダリティーの神経回路を総合的に解析した例は世界的にもなく、その意義は大きい。今後は神経回路という構造のみのデータに生物学的機能データを加えると一層有意義になるのではないかと考えられる。

2-4. 成果の実用化の可能性及び成果から予想される波及効果

○今後、成果の生命科学、研究基盤、産業への貢献度はどう見込まれるか。

本研究課題自体が代表研究者の研究ゴールの前半の段階であり、ショウジョウバエにおいてもさらなる研究が必要と思われる。ヒトなどへの応用についてはこれからの研究を待たねばならないが、今後の展開が期待される。

2-5. 総合評価

難しいテーマによく考えた研究戦略で挑戦し、一部達成できなかった点はあるものの神経回路の動作モデルを構築するのに必要な基盤となるデータを集積できたことは大きな意義がある。ただ、インフォマティクスは実験支援として本課題の一部を担うに留まり、成果物の公開も遅れている現状では本事業の趣旨にかなった成果を広く世界に知らしめたとは言い難い。今後は成果のデータベース化と早期公開を強く希望すると同時に生物学的機能データが加えられることを期待する。

3. 主な論文発表等

1. Kamikouchi A, Shimada, T. and Ito, K. Comprehensive classification of the auditory sensory projections in the brain of the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Journal of Comparative Neurology* **499**, 317-356 (2006).
2. Otsuna, H. and Ito, K. Systematic analysis of the visual projection neurons of *Drosophila melanogaster* - I: Lobula-specific pathways. *Journal of Comparative Neurology* **497**, 928-958 (2006).
3. Liu, G., Seiler, H., Wen, A., Zars, T., Ito, K., Wolf, R., Heisenberg, M. & Liu, L. Distinct memory traces for two visual features in the *Drosophila* brain. *Nature* **439**, 551-556 (2006).

参考

論文発表 国内 0 件、海外 5 件

口頭発表 国内 10 件、海外 6 件

ポスター発表 国内 6 件、海外 18 件