

飯野 雄一

東京大学大学院理学系研究科・教授

神経系まるごとの観測データに基づく神経回路の動作特性の解明

§1. 研究実施体制

(1)「飯野」グループ

① 研究代表者: 飯野 雄一 (東京大学大学院理学系研究科、教授)

② 研究項目

- ・特定の複数神経の測定とモデリング
- ・神経系まるごとの測定とモデリング
- ・神経回路の動作特性の理解

(2)「石原」グループ

① 主たる共同研究者: 石原 健 (九州大学大学院理学研究院、教授)

② 研究項目

- ・単一神経細胞全体の神経活動の測定
- ・特定の複数神経の測定とモデリング
- ・神経系まるごとの測定とモデリング
- ・神経回路の動作特性の理解

(3)「岩崎」グループ

① 主たる共同研究者: 岩崎 唯史 (茨城大学工学部、助教)

② 研究項目

- ・単一神経細胞のモデリングの前提となる画像の定量法の検討
- ・ASE 感覚神経とその下流数個の介在神経からなる塩化学走性の回路モデリング

(4)「吉田」グループ

① 主たる共同研究者: 吉田 亮 (統計数理研究所モデリング研究系、准教授)

② 研究項目

- ・4D イメージングシステムの画像アライメント法の開発
- ・神経細胞ネットワークの構造推定手法の開発

§ 2. 研究実施内容

ヒトの脳をはじめとする動物の神経系の特徴は、多数の神経細胞がネットワークを作り、その集合体としての動作特性によってさまざまな種類の情報処理を可能としている点である。動物はこの能力のお陰で外界からの多様な情報を適切に処理し、最適な行動を出力していると考えられる。

このように、神経系は魅力的な研究対象であるが、動物の神経系全体にわたっての動態観測を行い、行動を作り出す神経系の動作原理を解明した研究は皆無に近い。本研究は、全神経細胞の数が 302 個と少数であり、それらの間のシナプス結合、ギャップ結合がすべて明らかになっている線虫 *C. elegans* を用い、頭部の神経系全体の動作を 3 次元的なイメージングにより測定し、その結果を数理的に解析し、個々の神経細胞および神経ネットワークの動作をモデル化することを通じて、神経回路の動作のしくみと行動制御の原理を解明することを目指している。

そのためにはさまざまな技術開発が必要である。そこで、以下の項目のそれぞれについて、平成 24 年度から平成 29 年度までの研究期間中に、段階を追って研究を遂行する予定である。

- A) 単一神経細胞のモデリング
- B) 特定の複数神経の測定とモデリング
- C) 神経系まるごとの測定とモデリング
- D) 神経回路の動作特性の理解

以下、本年度の研究結果と研究進捗状況について項目別に記載する。

A) 単一神経のモデリング

・単一神経細胞の測定とモデリング

塩 (NaCl など) を受容する化学受容感覚神経である ASER 神経は塩濃度変化に応答することが知られている。ASER 神経にカルシウムインディケータである GCaMP を発現させた線虫に塩濃度変化を与えることにより、神経応答を測定した。一方、Goodman ら(1998)により ASER 神経の電気生理学的測定がなされ、I-V 関係が記載されている。これら両者のデータをもとに、神経細胞を点素子として扱った conductance-based model を作成し、ASER のカルシウム応答の特性をほぼ再現することに成功した。(飯野グループ、岩崎グループ)

また、イソアミルアルコールの化学受容感覚神経である AWC^{ON} 神経の突起を含めた細胞全体について、タイムラプス 3 次元共焦点画像測定装置を用いて、刺激に依存した応答を測定し、刺激条件、測定条件について検討を行った。一方、AWC^{ON} の細胞体および神経突起に沿った膜電位分布、カルシウム濃度分布、カルシウムプローブの蛍光強度分布それぞれの時間変化をシミュレートするためのプロトタイプ数理モデルを作成した。膜電位はケーブル方程式と Hodgkin-Huxley model を組み合わせたモデル式、カルシウム濃度とカルシウムプローブ濃度は反応拡散方程式で扱った。(石原グループ、岩崎グループ)

B) 複数の特定神経のモデリング

・ASH, AWA 感覚神経と下流神経の測定(石原グループ)

ジアセチルなどの匂いを感じる AWA 感覚神経と、AWA 神経からシナプス出力を受け取る AIA

介在神経、AIB 介在神経について、ニポウディスク方式の共焦点装置と対物ピエゾ素子を用いたタイムラプス3次元共焦点画像測定装置により、匂い刺激に対するカルシウム応答を同時に測定した。その結果、AIA 神経が AWA 神経と同方向に応答する(匂いの添加に応答する)のに対し、AIB 神経はこれらと同時に、かつ鏡像的に応答することが観測された。

C) 神経系まるごとの測定とモデリング

・細胞同定のためのイメージング方法の整備(石原グループ)

上記のタイムラプス 3D イメージングシステムは現在カメラ 2 台を用い、カルシウムイメージングのための 2 波長の蛍光を同時測定できるようになっている。これに加え、細胞同定のための蛍光プローブを同時に測定できるように、カメラ 3 台での同時測定ができるよう改造を行った。

・画像アラインメント法の確立(飯野グループ、吉田グループ)

多数の神経にカルシウムプローブを発現させた線虫の頭部神経系の 3 次元タイムラプス蛍光画像を撮影し、この画像データ上で細胞の自動同定と、線虫の移動に伴うトラッキングを行うための画像解析技術の開発を進めた。その結果、カーネル密度推定と EM アルゴリズムに基づく細胞数及び細胞体位置の自動検出と、遺伝的アルゴリズムを用いた楕円体フィッティング、アフィン変換を主体とする逐次推定法などの組み合わせにより、細胞同定とトラッキングを高い成功率で行うことを達成した。

D) 神経回路の動作特性の理解

・濃度の記憶と連合学習の機構(飯野グループ)

線虫を塩の濃度勾配の上に置き、化学走性行動を観察すると、過去に餌と共に経験した塩濃度の付近に移動する。つまり、線虫は経験塩濃度を記憶し、それに応じて行動を変化させる。この記憶と行動変化が神経系のどのような情報処理によってなされているかの研究を進めた。感覚神経 ASER と、ASER から出力を受ける介在神経の活動をカルシウムイメージングにより測定すると、経験した塩濃度によって ASER 神経と AIB 介在神経の応答が大きく変化する。特に、AIB 神経は、高塩濃度で飼育されていたときには塩濃度の低下に大きく応答するが、低塩濃度飼育後には応答しない。一方、AIB 神経を活性化させると方向転換行動が引き起こされることがわかっている。AIB 神経の重要性を調べるために、細胞死を引き起こすカスパーゼを AIB 神経に特異的に発現させることにより AIB の殺傷実験を行った。化学走性行動は主にピルエット機構と風見鶏機構により達成されている。前者は前進に伴う塩濃度変化が正であるか負であるかにより、方向転換の頻度が逆方向に変化する行動、後者は進行方向に垂直な塩濃度勾配に応じてカーブして進む行動である。AIB 殺傷株の行動を定量化したところ、ピルエット行動が低下していたが、風見鶏行動は正常株と差がなかった。また、チャンネルロドプシンを発現させて ASER 神経を光活性化すると、ASER の活性化による方向転換頻度の変化が AIB の殺傷により大幅に縮小した。以上の結果は、ASER 神経が塩濃度変化を感じ取ってピルエット行動を制御する機能に、AIB 神経が重要な働きを担っていることを示す。さらに、ASER 神経から AIB 神経へのシナプス伝達の変化が、記憶した塩濃度によるピルエット行動の変化の要因になっていることが示された。