

「脳神経回路の形成・動作原理の解明と制御技術の創出」
平成22年度採択研究代表者

H24 年度 実績報告

伊藤啓

東京大学分子細胞生物学研究所脳神経回路研究分野・准教授

感覚情報を統合する高次神経の回路構造と機能のシステム解析

§1. 研究実施体制

(1) 伊藤グループ

① 研究代表者: 伊藤啓 (東京大学分子細胞生物学研究所、准教授)

② 研究項目

- ・視覚・嗅覚・聴覚・味覚の低次感覚中枢からの投射神経経路と機能の解析
- ・体性感覚中枢の同定と投射マップの構造機能解析
- ・脳全体の神経回路のプロジェクトーム解析
- ・行動制御神経の同定とその入力領域に投射する感覚情報の解析
- ・新規の遺伝子発現誘導システムの構築

§2. 研究実施内容

【視覚・嗅覚の中枢とそこに投射する神経の解析】

従来から研究を重ねてきた視覚系・嗅覚系の構造解析を発展させる形で、いくつかの成果を発表した。嗅覚系に関しては、嗅覚一次中枢から周囲に伸びる神経の投射構造を網羅した論文をまとめ、従来知られていなかった多数の嗅覚情報経路を新たに同定した¹⁾。また独マックスプランク研究所のグループと共同で、我々が同定したキノコ体と周辺脳領域を結ぶドーパミン性神経が匂い記憶の形成に果たす役割の解析を²⁾、熊本大のグループと共同で、我々が見いだした系統でラベルされる神経が中心複合体を介した睡眠制御に不可欠なドーパミン神経と相互作用することを発表した³⁾。さらに昨年度完成していた、アメリカのグループとの共同研究による視覚2次中枢に見られる特徴的な構造が嗅覚1次中枢の糸球体と構造・機能的に類似していることを報告した論文が発表された²⁾。

【ショウジョウバエ脳アトラスの刊行準備】

昨年度出版社と交渉をまとめた脳アトラスの作成作業を継続した。ショウジョウバエ脳は分子神経科学の分野で世界的に広く使われているにもかかわらず、これまで脳のアトラスが出版されていなかった。160を超える図版の細かいアノテーションを完成させ、詳しい解説文章の執筆を進めた。

【脳標本を正確な角度で撮影するシステムの開発】

特定の神経をラベルした脳標本は、レーザー顕微鏡を用いた連続断層画像を撮影し、それを三次元構築して解析する。しかしホールマウント標本をプレパラートにマウントする際、正確な冠状断面像や水平断面像を撮影できるように標本の向きをコントロールすることは難しい。こうした傾きを撮影後に電子的に補正する技術は近年大きく進化しているが、電子的補正は常に解像度の劣化が生じる。また、ライブイメージングでは脳内のある面に焦点を合わせて経時的に撮影するが、たとえば左右1対の神経があっても、その両方がきちんと同じ焦点面に入るように脳の位置を調整するのは難しい。

こうした困難を解決し、常に正確な方向で撮影を行えるようにするため、通常顕微鏡ステージが持つ水平方向(x, y軸)の移動と光軸(z軸)回りの回転に加え、x, y軸回りにステージを左右・前後に±5度まで傾けられる5軸ジンバルステージを設計、試作した。焦点面移動によるz軸調整と合わせて3次元空間の6自由度全てを制御可能にすることによって、標本の向きを自由に補正し、常に正確な角度で撮影できるようになった。

【細胞系譜にもとづいた神経ネットワークの解析】

長年続けてきた、個々の神経幹細胞の子孫から作成される神経回路群(クローナルユニット)の同定作業がほぼ終了し、合計96個のユニットを発見した⁵⁾。クローン関係にある神経の線維は、特定の神経束を作ることが多い。このような神経束を網羅的に同定した結果、脳全体で150本の神

神経束(同側線維 128、交連線維 22)を見いだした。1本の神経束は、1乃至たかだか 5 個程度のクローンによって構成されており、神経線維束はクローン依存的な構造であることが分かった。また、神経線維には細胞体から末端へという構造的方向性があるが、複数のクローンの神経束が融合するときは、ほとんどが同じ向きに融合していた。一方、入力シナプスから出力シナプスへという生理学的な方向性に関しては、出力シナプスが明確な局在を示した 46 のクローンのうち 23 個で、近位から遠位でなく遠位から近位への方向性を持つ線維の存在が観察され、情報が神経線維を流れる向きは多様であることが分かった。

1 つのクローンは全て同じ場所に投射する同じ形の神経を作るわけではなく、投射パターンの多様性には大きなばらつきが見られた。また、1つのクローンの細胞は GABA やモノアミンなど多様な神経伝達物質を作っており、生化学的にも多様性が見られた。

クローンの中には、異なる複数のクローンが 1 つの脳構造を協同して作るケースが多く見られた。こうした複数の系譜 (lineage) のスーパーファミリーを、文化人類学の用語を援用して氏族 (clan) と呼んでいる。神経回路の構成には lineage だけでなくその上に clan という階層構造があることが確かになった。

【神経ネットワークのコミュニティ解析による感覚統合の推定】

こうして得られた、線虫を除いてこれまでで最も網羅的な脳内の神経投射パターンのプロジェクトーム情報を利用して、脳の領域を相互に関連の深いものにグループ分けするコミュニティ解析を行った⁵⁾。まず 96 個のクローナルユニットを、投射パターンに基づいて 247 個の投射サブグループに細分化し、それらが結ぶ脳領域間結合のグラフ情報から、5 つのコミュニティを同定した。コミュニティ 4 と 5 は他との結合が少ない左右のキノコ体だけからなり、視覚系の 3 つの 2 次中枢はコミュニティ 1, 2, 3 に分散し、嗅覚系は側角を経由するコミュニティ 2 とキノコ体を経由するコミュニティ 3 に分かれた。また聴覚系はコミュニティ 1 に集まった。これによって、視覚情報や嗅覚情報は脳の異なる領域群に分配され、それぞれが異なる他の感覚情報と統合処理される可能性が示唆された。

【体性感覚中枢の解剖学的構造の解析】

視覚系・嗅覚系・味覚系・聴覚前庭覚に比べほとんど知見がなかった体性感覚中枢について構造の解析を進めており、胸部神経節から脳に投射する神経をラベルする発現誘導システムのスクリーニングによって、これまで 20 種近い投射標的微小領域を同定した。予想に反し、体表の体性感覚細胞のかなりの部分が脳まで直接投射しており、これら末梢感覚神経が投射する脳領域と、胸腹部神経節の介在神経が投射する脳領域は、重複がほとんど見られなかった。また、脚からの神経と翅からの神経は異なる場所に投射していた。これらの組み合わせにより、体性感覚中枢には複雑なマップが存在することが示唆された。

【体性感覚中枢の機能的解析の準備】

体性感覚中枢を解析するには、解剖学的な構造を知るだけでなく、体表のさまざまな部位に加えられる刺戟がどのように脳内の活動として表現されるかも知る必要がある。このような解析を可能にするため、2光子顕微鏡、手術用実体顕微鏡、マイクロマニピュレーター、赤外線レーザー、ピエゾマイクロアクチュエーター、気流制御装置などを組み合わせて体表のさまざまな部位にさまざまな機械的刺戟を加える実験系を開発し、測定の立ち上げを行った。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

● 論文詳細情報

1. Tanaka, N. K., Endo, K. and Ito, K. (2012) The organization of antennal lobe-associated neurons in the adult *Drosophila melanogaster* brain. *J Comp Neurol* 520: 4067-4130. (doi: 10.1002/cne.23142.)
2. Aso, Y., Herb, A., Ogueta, M., Siwanowicz, I., Templier, T., Friedrich, A. B., Ito, K., Scholz, H. and Tanimoto, H. (2012) Three dopamine pathways induce aversive odor memories with different stability. *PLoS genetics* 8: e1002768. (doi: 10.1371/journal.pgen.1002768)
3. Ueno, T., Tomita, J., Tanimoto, H., Endo, K., Ito, K., Kume, S. and Kume, K. (2012) Identification of a dopamine pathway that regulates sleep and arousal in *Drosophila*. *Nat Neurosci*: 15, 1516-23. (doi: 10.1038/nn.3238.)
4. Mu, L., Ito, K., Bacon, J. P. and Strausfeld, N. J. (2012) Optic glomeruli and their inputs in *Drosophila* share an organizational ground pattern with the antennal lobes. *J Neurosci*, 32: 6061-71. (doi: 10.1523/JNEUROSCI.0221-12.2012.)
5. *Ito, M., Masuda, N., Shinomiya, K., Endo, K., and Ito, K. (2013) Systematic analysis of neural projections reveals clonal composition of the *Drosophila* brain., *Curr Biol*, in press