

審査の結果の要旨

氏名 平本 篤紀

学位申請者の平本篤紀は、動物の運動の本質である体部位間で協調した筋肉の収縮及び弛緩を制御する神経回路基盤の解明を目指し、ショウジョウバエ幼虫の後退運動をモデルとして研究を行った。本論文は5つの章から構成されている。まず第1章において、筋肉の収縮と弛緩を制御するメカニズム、パターン化された運動を生み出す神経回路の動作原理、ショウジョウバエ幼虫のモデル生物としての有用性、用いた実験手法などに関するイントロダクションが述べられている。次に第2章において研究の結果として、後退運動時に体節間で協調した筋弛緩を制御するニューロンを同定し Canon ニューロンと名付け、どのような神経回路を構築しているかについて明らかにしたことが記されている。また、Canon ニューロンが後退運動時の筋弛緩特異的なパターン生成器である可能性が提示されている。第4章は考察となっており、先行研究で発見された後退運動時に筋弛緩を制御する Ifb-B ニューロンとの機能的、形態的な差異について議論している。また、Canon ニューロンによるパターン生成機構についてモデルを提案している。そして最後の第5章に結論が述べられている。

多くの動物の運動は、身体の様々な部位の存在する複数の筋肉を適切なタイミングと順番で協調して収縮、弛緩させることによって達成されている。これが可能となるのは、筋肉の収縮と弛緩を制御する運動ニューロンの活性化と不活化を特定のパターンで繰り返すことによってである。このパターンは中枢神経系内の中枢パターン生成器と呼ばれる神経回路構造によって生成されることが知られている。しかし、様々な動物で同定されている中枢パターン生成器は主に、特定の体節の筋肉の収縮と弛緩のパターンを生成する神経節内で閉じた回路であり、運動の肝となる異なる体部位を横断したパターン形成、制御を担う神経回路構造はこれまであまり明らかにされていない。

本研究では、ショウジョウバエ幼虫をモデルとして神経節を横断して筋収縮と弛緩のパターンを制御する神経回路機構の解明に向けた研究を行った。ショウジョウバエでは、細胞標的システム、遺伝学、光遺伝学等の様々なツールを用いることで特定の神経細胞の活動や形態の可視化、活動の操作が可能である。さらにコネクトミクス解析技術が確立されているため、さる神経細胞の上流や下流のニューロンを明らかにすることで、一細胞レベルでの回路構造の解明が可能になっている。本論文ではこの利点を活かすことで、どのようなニューロンが筋収縮と弛緩のパターンを生成、制御しているのか、そのようなニューロンはどのような神経回路を構成しているのか、またパターンの生成はどのような機構により行われているのかを順番に明らかにすることで、体節間で協調した筋肉の収縮及び弛緩を制御する神経回

路基盤の解明を目指した。

まず申請者らはカルシウムイメージングを用いて特定の運動パターンにおいて特異的に活動するニューロンを同定し、Canon ニューロンと名付けた。この Canon ニューロンは腹部神経節内に各神経節で繰り返し存在し、後退運動中に特異的に活動することを示した。さらに各神経節において後退運動に対応する運動ニューロンの活動に遅れて Canon ニューロンが波状に活動することを解析で明らかにした。Canon ニューロンの形態を単一細胞レベルで調べた結果、上行性のニューロンであり、前方の神経節の運動制御に関わる神経叢の領域に軸索側枝とシナプス前部を形成していることがわかった。また、神経伝達物質を調べたところ、コリン作動性であることがわかった。次に Canon ニューロンの機能解析を行い、光遺伝学的な活動亢進によって筋弛緩とそれに伴う運動の停止が、遺伝学的な活動抑制によって後退運動時の筋弛緩の阻害が引き起こされることを観察した。さらに Canon ニューロンがどのような神経回路を構築しているかを、コネクトミクスを用いて解析し、上流に後退運動のコマンドニューロンが、下流に抑制性の運動前ニューロンが存在することを示した。また、各神経節の Canon ニューロンが互いにシナプスを形成していることを明らかにした。最後に、破傷風毒素を発現させることで、Canon ニューロン間のシナプスにおける神経伝達物質の放出を阻害した状態でカルシウムイメージングを行った結果、Canon ニューロン以外の上流のニューロンからの入力が変わらないにも関わらず、Canon ニューロンの波状の活動パターンが阻害されることがわかった。この結果は Canon ニューロンの活動パターンの形成に Canon ニューロン自身の活動が必要不可欠であることを示している。以上の結果から、後退運動のコマンドニューロンが活動すると、Canon ニューロンが活動し、自らパターンを形成し、抑制性運動前ニューロンに出力することで筋弛緩を適切なタイミングで引き起こしていることが示された。以上の結果と先行研究に基づき、申請者は後退運動時の筋弛緩を制御するメカニズムとパターン生成のモデルを提案している。

これまでに様々な動物種において筋収縮、弛緩のパターン形成、制御に関する研究が行われてきた。しかし、体部位間を横断し筋肉の活動パターンを形成、制御するような神経回路はほとんど明らかにされてこなかった。本研究では、神経節を横断する筋弛緩のパターン形成及び制御をおこなっている神経回路を脳から筋肉まで一細胞レベルで明らかにした点で新規性がある。また、これまで調べられていたパターン生成器が主に収縮と弛緩の両方を同時に制御するものであるのに対し、本研究で示した神経回路は筋弛緩特異的であり、従来知られていたパターン生成器と運動における機能が本質的に異なる可能性がある。この点においても新規性がある。更に、先行研究で知られている後退運動中に筋弛緩を制御するニューロンを含んだ包括的な神経回路を提示した点も重要である。これらの新規の知見は運動神経回路を研究するにあたって今後の研究に大きく寄与するものであると考えられる。よって、学位申請者の業績は博士（科学）の称号を受けるにふさわしいと審査員全員が判断した。なお、本論文は、Julius Jonaitis 氏、二木佐和子氏、Richard Fetter 氏、Albert Cardona 氏、Stefan Pulver 氏、能瀬聡直氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（科学）の学位を授与できると認める。