

# 論文審査の結果の要旨

氏名 松永 光幸

本研究は、ショウジョウバエ幼虫のぜん動運動をモデルとして、運動回路の作動機構解明を目指したものである。動物の洗練された運動は、神経回路内における精確な情報の伝播によって生成される。これまで、歩行や遊泳などの運動パターン・リズムを生起する神経回路は、主に介在神経細胞 (INs: Interneurons) によって構成され、その最終出力が運動神経細胞 (MNs: Motoneurons) に伝えられるという描像が主流であった。しかし、近年、ヒルやマウスなどで MNs は効果器へ出力するだけでなく、同時に中枢へシナプス入力を与えることで積極的に運動パターン・リズムを制御することが示唆されていた。同様にショウジョウバエ幼虫でも MNs は中枢内でシナプス入力を与えること、さらにそのシナプス入力は運動の伝播ダイナミクスに影響を与えることが示唆されてきたが、その仕組みは明らかとなっていなかった。そこで本研究では、MNs がどのように運動回路に作用し運動を制御するのかを解明することを目的とした。このため、光遺伝学により MNs の活動を局所的に操作しながら、Ca<sup>2+</sup>イメージング法により MNs の中枢内活動伝播ダイナミクスを可視化することを可能にする実験系を構築し、MNs の局所的な活動操作が波の生成を制御する仕組みを探った。

ショウジョウバエ幼虫は尾端から頭端へかけて連続的に筋収縮を伝播させるぜん動運動により前進する。この運動は、腹部神経節内において尾側から頭側へかけて各神経分節内の MNs の活動が連続的に伝播することにより生成される。幼虫の腹部神経節は3つの胸部神経分節 (T1~T3) と8つの腹部神経分節 (A1~A8) によって構成され、それぞれの分節内に約80個の MNs が存在する。本研究では、まず、Ca<sup>2+</sup>プローブである Ca<sup>2+</sup>濃度依存性緑色蛍光蛋白質 GCaMP を MNs に発現させた単離神経節において、MNs の活動の伝播波を尾側から頭側への連続的な蛍光強度上昇、すなわち運動波として捉えられることを確認し、安定して運動波を測定できる条件を確立した。次に Ca<sup>2+</sup>イメージング法により運動波を観測しながら、MNs の活動を局所的に抑制するために、黄色光感受性陰イオンポンプであるハロロドプシンを MNs に発現させ、単離神経節内において、光刺激を神経根特異的に与えた。その結果、中央付近の神経節 (A4, A5, A6) の MNs を局所的に活動抑制すると、運動波の頻度が劇的に減少することを見いだした。一方、頭側 (A1, A2, A3)、あるいは尾側 (A7) の MNs の活動抑制によっては、運動波の頻度は大きく変化しなかった。続いて、MNs の局所的な活動亢進が運動波の生成頻度に与える影響を調べるために、Ca<sup>2+</sup>濃度依存性赤色蛍光蛋白質 RCaMP と青色光感受性陽イオンチャンネルであるチャンネルロドプシン2を MNs に発現させた単離神経節において、単一神経分節内の MNs の活動を局所的に亢進した。運動波の頻度は、尾側の (A6, A7) の MNs の活動を亢進することにより上昇した一方で、他の神経分節の活動亢進によっては大きな影響を受けなかった。これらの結果から MNs の局所的な活動操作が、運動波の生成頻度に影響を与えること、さらに、この影響には神経分節特異性が存在することが明

らかとなった。

最後に上記過程に関わる分子機構の解明を進めた。以前の研究により、ショウジョウバエ幼虫において、隣接する神経分節間の MNs が電気シナプスを介して結合していることが報告されてことから、電気シナプスに着目し、伝播波の頻度調節に関与するかを調べた。電気シナプスの構成要素である *shakB* の変異体において、MNs の局所的な活動操作を行った結果、正常体において運動波の頻度を大きく減少させた A5 神経分節 MNs の局所的な活動抑制が、*shakB* 変異体では効果を与えなかった。同様に A6 神経分節 MNs の局所的な活動亢進が波の生成頻度へ与える影響も消失した。このことから、MNs の活動操作による波の生成頻度変化は電気シナプスを介していることが示唆された。

以上のように、提出者はショウジョウバエ幼虫において MNs の活動は運動波の頻度に影響を与えること、その効果には神経分節差があることを新規に解明し、さらにこの過程に電気シナプスが関与することを示した。以上の知見は運動回路の作動機構の理解において重要な貢献をするものである。さらに、本研究で構築した光遺伝学とイメージングの同時適用系は応用範囲が広いもので、今後、種々の INs、MNs に拡張することで、運動回路の作動原理解明に大きく貢献すると期待される。

本論文は、高坂洋史助教、能瀬聡直教授との共同研究であるが、提出者が主体となって研究を行ったもので、提出者の寄与が十分であると認められる。したがって、博士（科学）の学位を授与できると認める。

以上 1865 文字