

論文の内容の要旨

論文題目

Anatomical and functional studies on neural circuitry for nociception in *Drosophila* larvae

(ショウジョウバエ幼虫における侵害受容感覚を担う
神経回路の構造・機能的研究)

氏名 吉野 次郎

<序論>

侵害受容感覚は無脊椎動物から脊椎動物まで有する基本的な感覚の一つであり、生存に非常に重要な役割を果たす。ショウジョウバエ幼虫においては体表の侵害受容を担う C4da 感覚ニューロンが、侵害受容によって引き起こされる特有の忌避行動である回転運動を誘導するのに必要かつ十分である。しかし、どのような神経回路により、C4da 感覚ニューロンで受容された侵害刺激が行動を引き起こすのかについては理解が進んでいない。本研究では侵害受容を担う神経回路の解明を目指し、C4da 感覚ニューロンから入力を受ける二次ニューロンの同定、およびその構造・機能的解析を行った。その結果、腹部神経節と呼ばれる中枢神経系の中にある 7 対 14 個のニューロンが回転運動を引き起こすのに必要かつ十分であること、これらのニューロンは運動神経へと出力を送っていることが明らかとなった。

<結果>

C4da 感覚ニューロンの構造的・機能的下流である mCSI ニューロンの同定

C4da 感覚ニューロンの軸索終末は腹部神経節内において特徴的なはしご型を示す。C4da 感覚ニューロンから入力を受ける二次ニューロンの同定のために、GAL4 系統 6849 系統をスクリーニングし、C4da 感覚ニューロンの軸索終末と同じ空間的配置の神経突起を持つ二次ニューロン候補となる 22 系統を得た。得られた二次ニューロン候補の中から、腹部神経節内において 7 対 14 個のニューロン(mCSIs)で GAL4 が発現している系統について、さらに詳細な解析を行った。まず、同じ空間的配置を示す mCSI ニューロンの神経突起と C4da 感覚ニューロンの軸索終末の距離を、スプリット GFP を利用してニューロン間の距離を測定する GRASP 法によって確認した。次に mCSI ニューロンが C4da 感覚ニューロンからの入力を受けて活性化していることを確かめるため、カルシウムイメージングを行った。C4da 感覚ニューロンを光遺伝学を用いて活性化させると、mCSI ニューロンにおいて一過的なカルシウムの上昇が観察された。これらのことから、mCSI ニューロンは C4da 感覚ニューロンから入力を受ける二次ニューロンであることが強く示唆された。

mCSI ニューロンは回転運動を誘導するのに必要かつ十分である

mCSI ニューロンが C4da 感覚ニューロンにより誘導される忌避行動にどのような影響をもつのかを解析するため、光遺伝学を用いて mCSI ニューロンを直接活性化させた。その結果、mCSI ニューロンを活性化された幼虫は回転運動を示した。これにより mCSI ニューロンの活性化が回転運動を誘導するのに十分であることを示された。次に mCSI ニューロンのシナプス伝達を抑制した状態で光遺伝学を用い、C4da 感覚ニューロンを活性化させた。mCSI ニューロンの抑制では C4da 感覚ニューロンの活性化によって誘導される回転運動が抑制された。これらの結果により mCSI ニューロンが C4da 感覚ニューロンの活性化により回転運動を行う際に必要十分であることが示された。

mCSI ニューロンは SNa 運動ニューロンへと出力する

mCSI ニューロンがどのようにして回転運動を誘導するのかを明らかにするため、mCSI ニューロンの出力先を調べた。まず、mCSI ニューロンの出力突起である軸索がどこに存在しているのかを明らかにするため、樹状突起のマーカータンパク質である **Denmark** と細胞全体を標識する **mCD8GFP** を同時に mCSI ニューロンで発現させた。その結果、mCSI ニューロンの軸索は細胞体の位置から背側方向に伸びていることが明らかになった。mCSI ニューロンが軸索を伸ばしている腹部神経節の背側領域は運動ニューロンが樹状突起を伸ばしている場所として知られている。mCSI ニューロンが運動ニューロンへと出力している可能性を考え、mCSI ニューロンと運動ニューロンで **GAL4** を発現する系統で共染色を行った。その結果、SNa 運動ニューロンにおいて発現が知られている **BarH1-GAL4** 系統において mCSI の軸索と SNa 運動ニューロンの樹状突起が近接していることが観察された。GRASP 法を用いた解析では、この 2 つのニューロンの中で **GFP** のシグナルは観察されなかった。しかし、mCSI ニューロンを光遺伝学により活性化すると SNa 運動ニューロンが活性化すること、SNa 運動ニューロンの抑制により mCSI ニューロンによって誘導される回転運動が減少することから mCSI ニューロンは最終的に SNa 運動ニューロンへと出力を送る神経回路を形成していることが示唆された。

<結論>

本研究により、**C4da** 感覚ニューロンの下流である二次ニューロン mCSI ニューロンは回転運動を引き起こすのに必要かつ十分であり、SNa 運動ニューロンへと出力を送る神経回路を形成している(図 1A)。この神経回路により **C4da** 感覚ニューロンによって受容された侵害刺激が、忌避行動である回転運動へと伝えられる(図 1B)。

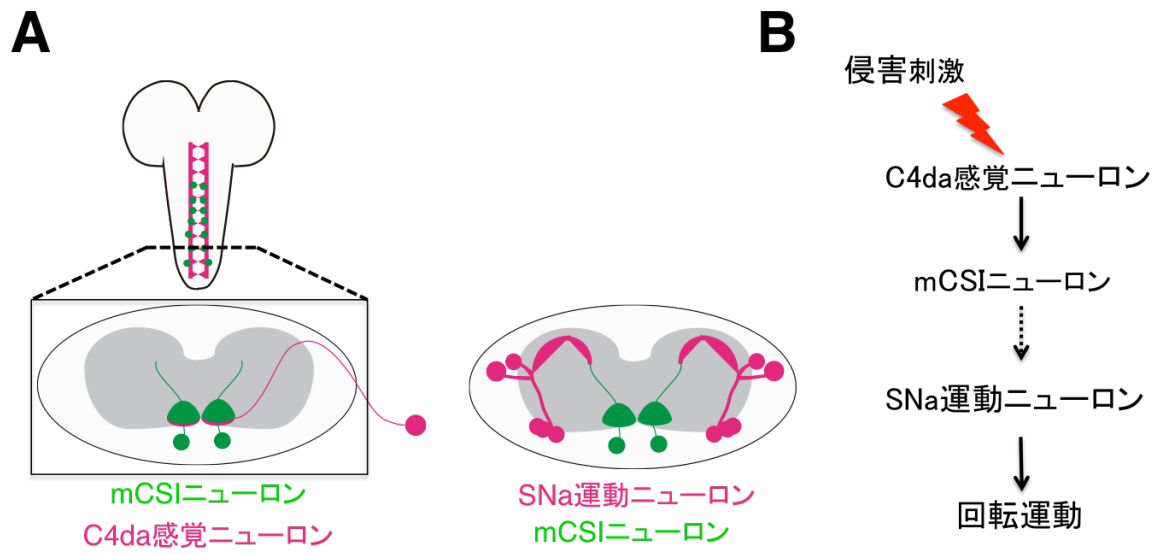


図1 ショウジョウバエ幼虫の侵害受容感覚を担う神経回路

A: 侵害受容神経回路の構造

B: 侵害刺激が回転運動へと伝えられる神経回路