

## 論文の内容の要旨

論文題目 キイロショウジョウバエ脳における感覚中枢の機能的解析  
(Functional analysis of sensory centers in the *Drosophila melanogaster* brain)

氏名 矢野 朋子

地球上の全ての生物は環境の変化を検知する仕組みを有しており、それにより外敵から身を守ったり、餌を見つけたりすることができる。これらの五感体表にある特定の感覚器官で刺激が受容され、感覚神経により脳に情報が伝えられることにより生じる。そして受容された感覚情報ごとに適切な行動を選択し、出力している。すなわち、動物の行動を理解するためには、外界からの刺激がどのように受容され、脳中枢で処理され、行動として出力されるのかという一連の経路を明らかにすることが必要である。しかし、複雑な脳をもつ動物になるほど、その経路の全貌を明らかにすることは困難である。そこで、よりシンプルな脳をもつ動物を用いて動物行動に関与する神経回路を明らかにし、全ての動物に共通する原理を見つけることは動物行動の理解において重要なステップとなる。

キイロショウジョウバエは昆虫の中でも脳研究が進んでおり、低次感覚中枢の神経回路の詳細が明らかとなっている。また多様な研究手法も開発されているため神経回路全貌の解明に適している。本研究では、視覚、聴覚、味覚、嗅覚に比べて研究が遅れている体性感覚中枢について、その構造と機能を明らかにする。また、波長特異的な行動が知られているがそれを司る神経回路が解明されていない視覚中枢について、視覚の低次中枢と高次中枢を結ぶ高次視覚投射経路の神経活動の波長特異性を解析する。

キイロショウジョウバエの体性感覚に関しては、その感覚器官が体表に散在していること、刺激の種類が触覚、圧覚、温度覚、痛覚など複数種あることなどから、他の感覚と比べて脳における中枢の解析があまり進んでいなかった。そこで本研究では、解剖学的な解析により、ハエの胴体部から脳へ投射する神経の形態、投射経路に関しての詳細を調べ、それらの神経についてどのような体性感覚情報がどのような経路で、脳のどの領域に投射するのかを GAL4-UAS システムを用いたカルシウムイメージング法により解明する。研究手順としては、既知の経路から、カルシウムイメージングに使用可能な特異性が高く、発現の強い系統を選び、胴体部に複数種の刺激を与えた場合や、自由に行動している場合での神経活動をカルシウムイメージング法により記録した。

高次視覚投射経路の波長特異性の解析は、これまでに明らかにされている 2 経路について、異なる波長の光をハエの眼に照射し、そのときの神経応答をカルシウムイメージング法により解析した。ハエの眼は紫外光も検知できるため、使用する波長は紫外域の 350nm

から赤色の 680nm までとし、30nm 間隔で異なる波長の光を照射した。

キイロショウジョウバエの体表には、機械感覚毛、鐘状感覚子と呼ばれる感覚器官があり、それぞれ接触や圧覚を受容している。また体表のすぐ下には弦音感覚器や樹状に広がった神経が広がっており、それぞれ振動や温度、痛みなどを受容している。解剖学的な解析により、それら体表の体性感覚受容器から脳への神経投射経路には 2 種類あることが分かった。一つは末梢から直接脳へ投射する経路、もう一つは胸部神経節で介在神経を介して脳へ投射する経路である。カルシウムイメージングはこの二種類の経路について行った。

直接の経路には、翅、平均棍、脚からのものがあり、腹からのものは確認されなかった。翅、平均棍の経路は、それぞれの末梢から胸部神経節に入った神経群が頸部で一つになり、脳に入って分岐して 4 つの領域に投射する。投射領域は GNG と呼ばれる領域の腹側後部に 2 束 (Hcs1N-a, b) と、同じ GNG ではあるが聴覚の 1 次中枢である AMMC と呼ばれる領域のすぐ後に 2 束 (Wcs1N-a, b) である。この 4 つの神経束をラベルする系統において、まず刺激を与えやすい翅の基部に 4 パターンの機械刺激を与えた (圧迫と、1Hz、50Hz、300Hz の振動)。その結果、圧迫、振動数に関係なく機械刺激により翅が動いた場合に Wcs1N が応答した。平均棍も同様に、平均棍が動いた場合に Hcs1N が応答した。このことから、翅からの神経束は AMMC 後の GNG へ、平均棍からの神経束は腹側後部の GNG へ投射し、翅、平均棍の動きを検知していることが明らかとなった。博士研究員の研究でこれらの神経は体表の歪みを検知する鐘状感覚子に由来することが分かっており、機械刺激への応答はこの感覚子の特性によく合致している。さらに Wcs1N、Hcs1N が翅、平均棍の動きを検知することから、飛翔時の神経応答を調べたところ、静的な機械刺激時に比べ劇的に反応が強くなった。飛翔の実験では、機械刺激時には応答が確認できなかった Wcs1N-b の反応も確認できた。このことから、脳に投射する Wcs1N、Hcs1N がそれぞれ翅、平均棍の動きの激しさや角度を検知し、その動きをモニターしていることが分かった。

次に脚から直接脳へ投射する神経群は、弦音感覚器に由来するもので、脳の AVLPL と呼ばれる領域に投射している。この経路では、ほとんど同じ経路を通るが終末部位が少し異なる 2 つの神経群が見つかった (Lco1N1、Lco1N2)。それぞれをラベルする異なる 2 系統のハエを用いて、自由行動下におけるそれぞれの神経応答を調べた。ハエの行動をボール上での歩行 (walk) と脚の静止 (stop ball)、空中で脚が何にも触れずにばたつかせている状態 (move air)、空中で脚を自分の体や固定装置に接触させながら動かしている状態 (contact air)、空中での脚の静止 (stop air)、脚を折りたたんだ飛翔 (flight) の 6 つに分類し、それぞれの行動時の神経応答について比較した。その結果、ボール上では Lco1N1、2 とともに静止時より歩行時の方が強く反応していた。空中においても、静止時に比べ、脚を動かしている状態のばたつき時や接触時の方が神経が反応していた。Lco1N1 と Lco1N2 の

大きな違いは、ボール上の静止時の反応である。Lco1N1 では、ボール上の静止時が全ての行動の中で最も反応が小さいが、Lco1N2 ではボール上の静止時よりも空中での静止時や飛翔時の方が反応が小さい。以上の結果から、Lco1N1、Lco1N2 の両方とも脚の動きを検知していると考えられる。また、Lco1N2 は、ボール上で静止している時にも弦音器官からの情報を受容していることが考えられる。

Lco1N1 においては、さらにハエの正面から強い風を与え、踏ん張らせたときの Lco1N1 の応答を調べた。ハエの正面から強い風を与える実験では、歩行状態から踏ん張り状態に移行した場合と、静止状態から踏ん張り状態に移行した場合で、それぞれ神経応答を比較した。その結果、歩行状態から踏ん張り状態への移行では神経応答に差が無く、静止状態から踏ん張り状態への移行では踏ん張り状態に入ると神経応答が強くなることが確認された。このことから、Lco1N1 は脚の動き時だけでなく、脚の筋肉の収縮時にも反応すると考えられる。

さらに、前脚、中脚、後脚からの情報が脳のどこに伝えられるかを調べるため、体の片側の脚を1本だけ残して他を切除したハエをボール上で歩行させ、静止時と歩行時の Lco1N1 の神経応答を比較した。その結果、前脚のみ、中脚のみ残した場合は、脳の AVLP 領域で歩行時に神経応答が確認されたが、後脚の場合には AVLP 領域には応答が見られなかった。そこで、投射経路の途中である GNG の部分において神経応答を調べたところ、歩行時と静止で神経応答に差が見られた。このことから、前脚、中脚からの情報は AVLP まで伝えられるが、後脚からの情報は GNG に送られることが明らかとなった。このことは、解剖学的な神経投射の差とも合致している。

次に介在神経の経路では、当研究室の博士研究員が同定した脚の弦音感覚器からの情報を伝える介在神経群 Lco2N1、2 と脚の機械感覚毛からの情報を伝える Les2N1、2 の4経路を解析した。

弦音感覚器の介在神経 Lco2N1、2 は脳内で異なる経路を通るが、投射標的は Lco1N と同様に AVLP である。それぞれの神経群をラベルする系統を用いて、飛翔を除く5つの行動での神経応答を調べた。その結果、Lco2N1 では、ボール上での反応は歩行時に強かった。しかし、空中では静止時とばたつき時の応答に差が無く、両者ともにボール上の静止時より反応が小さい。その代わりに、接触時には有意に強く神経が反応した。Lco2N2 は Lco2N1 と同様にボール上では静止時より歩行時の方が応答が強く、空中でも静止時よりばたつき時の方が応答が強かった。また脚の静止時を比較すると、ボール上より空中の方が応答が小さかった。このことから、Lco2N1 は、脚の接地情報と動きの情報の両方が入力されたときにのみ反応すると考えられる。

機械感覚毛の介在神経 Les2N1、2 は両者とも GNG の少し異なる領域にまず投射し、そ

の後 Les2N1 は SLP と呼ばれる脳の上部に、また Les2N2 は PVLP と呼ばれる脳の側方の中間の高さにある領域に投射する。イメージングは、脳の比較的上部にあって観察がしやすい SLP と PVLP において行った。Les2N1 においては、解析した 5 種類の行動パターンでの神経応答の間に有意な差は認められなかったが、Les2N2 では Lch2N2 と類似した結果が得られ、脚が動くことによって何かに触れると、神経が強く反応することが分かった。さらに統計検定の結果、Les2N2 では接地感覚があるボール上での静止時に比べ、接地感覚がない空中での静止時やばたつき時の方が応答が強くなるという、Lco2N1 とは逆の性質が示された。

これまでの研究から明らかにされた視覚の低次中枢と高次中枢を結ぶ投射経路 (VPN: visual projection neuron) のうち、1 経路において波長特異的な応答を発見した。この経路の投射終末領域は 2 つの糸球体状になっている。この領域をさらに細かく 3 部位に分けて神経応答を解析したところ、外側の糸球体では 350~410nm で神経の抑制が、470~620nm で興奮が観察された。内側の糸球体では、背側の領域では 350~470nm で神経の抑制、560~620nm で興奮が観察された。同じ内側の糸球体でも腹側の領域部分では、350~380nm で抑制が、410~680nm で興奮が観察された。つまり異なる糸球体領域に投射する神経ごとに、波長応答特性が異なることが示された。