

論文の内容の要旨

Systematic analysis of brain structure and neural network from a view of neuroblast lineages in *Drosophila melanogaster*

(幹細胞の系譜から見たショウジョウバエの脳構造と神経ネットワークの体系的解析)

Masayoshi Ito

伊藤 正芳

脳の機能は複雑な神経ネットワークによって成り立っており、たとえ単純な行動でも、そこには多くの神経細胞が関わっている。脳の機能を理解するためには、まず脳の複雑な神経ネットワークがどのように形成されているかを調べる必要がある。そのためには脳の神経細胞の網羅的で詳細な形態と投射の解析を行うことが重要である。

神経幹細胞は発生中の脳で非対称な分裂を続け、同じ幹細胞由来の神経細胞集団を作る。ショウジョウバエではある幹細胞に由来する神経細胞は脳の特定の領域に投射することがわかっている。このような神経細胞集団はクローナルユニットと呼ばれ、脳構造や神経ネットワークの単位として考えられる。

ショウジョウバエ脳は約 10 万個の神経によって構成されており、そのうち視葉と食道下神経節を除いた大脳の神経は片半球辺り約 1 万 5 千個と推定されている。これらの神経細胞は約 100 個の神経幹細胞に由来するため、大脳の神経回路は約 100 種類のクローナルユ

ニットによって構成されていると考えられる。

約 100 種類のクローナルユニットの網羅的で詳細な形態と投射の解析を行うことで、脳の構造や神経ネットワークの構築にクローナルユニットがどのように関わっているかを明らかにすることができると考えられる。

ショウジョウバエのほとんどの神経幹細胞には2つの分裂期がある。胚期の初期から中期にかけて幼虫の神経を作るときと、幼虫期の初期から蛹期の初期にかけて成虫の神経を作るときの2つである。私は Mosaic Analysis with Repressible Cell Marker (MARCM) 法を用いて、胚期の後期から幼虫期の初期に熱ショックによって染色体の組み換えを起こし、約 100 個の神経幹細胞とそれに由来する神経細胞集団をランダムに標識した。私は約 5000 個のサンプルを解剖し、標識されたクローンの細胞体の位置と投射パターンを比較することで、96 個のクローナルユニットを同定した。

クローナルユニットにはいくつかの共通の構造的特徴が見られた。クローナルユニットの細胞体は1つのクラスターを形成しており、細胞体クラスターからは、1本または少数の神経束が神経網に伸びている。そして、神経の投射範囲は特定の神経網に限られており、それらは各クローンに固有のものであった。クローナルユニットの約 80%は投射神経を含んでおり、他のクローンは局所介在神経のみを含んでいた。また局所介在神経のクローンは脳の特定の場所にのみ見られた。

同定したクローナルユニットの形態から脳と同じ半球の異なる領域を結ぶ同側神経束 128 種類、左右の半球の同じ領域を結ぶ交連神経束 22 種類を同定した同側神経束は単一のクローンによって形成されるものが多く、交連神経束は複数のクローンで共有されているものが多かった。交連神経束は細胞体から離れた位置で神経束が合流するものが多かったが、同側神経束では特にそのような傾向は見られなかった。また、複数のクローンで共有されている神経束はほとんどが神経線維の伸びる向きが同じだったが、一部の神経束では逆向きの神経線維が含まれるものもあった。

同じ脳領域に投射するようなクローナルユニットのグループがあるかどうか調べるために、クローンの投射範囲の重複度に基づいてクラスター分析を行ったところ、おおまかに背側の側面、背側の中央、腹側の側面と腹側の中央に分かれた。ショウジョウバエの発生中の脳は前大脳、中大脳、後大脳に分かれているが、前大脳に属するクローンは3つのグループに分かれ、中大脳と後大脳に属するクローンは特定のグループに集まっているわけではなかった。また、脳領域ごとのクローナルユニットの投射範囲の重複度を調べたところ、触覚葉やキノコ体、中心複合体などのよく研究されている領域は重複しているクローンの数が少なく、SLP や SMP、PVLP、CL などの複雑神経網と呼ばれる領域はクローンの重複が多いことがわかった。

複雑神経網はシナプスの抗体染色や銀染色では一様に見えるが、クローナルユニット単位で見ると構造的な違いが見えてきた。PVLP や PLP は視覚神経が瘤状の構造を作っているが、これらはクローナルユニット依存的構造だということがわかった。また、PVLP は脳領域全体に投射するクローンが多いが、PLP では脳領域の一部にしか投射しないクローンが多かった。クローンの投射範囲の重複が多い SLP や SMP、CL などの領域では、特定の脳領域とつながっている小領域があることがわかった。

クローナルユニットと神経伝達物質の関係性を調べてみると、抑制性の GABA 神経は多くの細胞体クラスターを形成しており、半数以上のクローンで GABA 神経が含まれていることがわかった。また、モノアミン神経であるセロトニン、ドーパミンとオクトパミン神経は少数のクローンにのみ含まれていた。クローナルユニットの中には複数の神経伝達物質の神経を含むものがあり、特定の神経伝達物質のみ作っているわけではないということがわかった。また、投射神経を含むクローンの半数以上で GABA 神経が含まれていた。

脳の神経ネットワークを解析するために、まず同定したクローナルユニットを神経束と投射範囲の違いによって左右で 494 の投射グループに分け、各脳領域を結んだ神経投射のネットワークを構築した。各脳領域について連絡している他の脳領域の数 k と連絡に関わっている投射グループの数 s を調べて見ると、SLP や SMP、CL などの領域は k と s が多く、触覚葉やキノコ体、中心複合体は k と s が少なかった。また、SLP や SMP、CL などの領域は左右の同じ領域間の連絡も多いことがわかった。

脳領域間の連絡が多いコミュニティ構造を調べるために、Blondel のアルゴリズムを用いたところ、5 つのコミュニティを得た。各コミュニティはそれぞれ脳の側方腹側領域、側方背側領域、中心複合体とその周辺領域、そして左右のキノコ体であった。コミュニティ外の脳領域に対する s_{ex} の値と、コミュニティ内の脳領域に対する s_{in} の値の関係を調べたところ、中心複合体とキノコ体以外の領域では s_{ex}/s_{in} の値が大きく、中心複合体とキノコ体では s_{ex}/s_{in} の値が小さいことがわかった。この結果は中心複合体とキノコ体はコミュニティ間の連絡が少なく、複雑神経網はコミュニティ間の連絡が多いことを示唆している。

私の研究はこれまで明確な構造がないと思われていた複雑神経網にクローナルユニット依存的な構造を発見した。また、これまで研究が進んでいなかった複雑神経網の神経ネットワークを明らかにし、それらが中心複合体やキノコ体とは違うネットワークの特徴を持つことを明らかにした。このように神経幹細胞の系譜から網羅的で詳細な解析を行うことは、ショウジョウバエの脳構造と神経ネットワークを理解する上で重要かつ効率的な研究であると言える。