

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：11201

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2008 ～ 2012

課題番号：20115004

研究課題名（和文） 複数感覚入力に対する行動選択の神経回路

研究課題名（英文） Neural Network on Choice of Behavior to Multiple Sensory Inputs

研究代表者

新貝 鉦蔵（SHINGAI RYUZO）

岩手大学・工学部・名誉教授

研究者番号：00089088

研究成果の概要（和文）：線虫の神経系と行動の関係を知らるために、行動解析用ソフトウェアを開発した。行動状態（前進運動、方向転換など）の自動認識方法の精度を上げた。また、頭の振りの周期性と不規則性を数値化し評価する方法を提案した。これらの方法を用いて、変異種間の動きの違いや加齢に伴う変化を見出した。行動の量的解析、行動モデル、および神経モデルを、2つの感覚入力を同時に与えた時の行動や酸忌避行動における行動選択の理解に役立てた。

研究成果の概要（英文）：In order to understand the relationship between the nervous system and behavior of *C. elegans*, we developed software to analyze the behavior. The method to identify automatically the behavioral states (forward movement, turn etc.) was refined, and a novel method to evaluate periodicity and irregularity of the head movement was proposed. By using these methods, we found the difference of head movements among the wild type and several mutant strains, and the head movement age-dependency. The quantitative behavioral analysis, behavioral model, and neural model were utilized to understand the behavioral choice when two sensory inputs were applied simultaneously, and that in the acid avoidance behavior.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	18,000,000	5,400,000	23,400,000
2009年度	10,200,000	3,060,000	13,260,000
2010年度	14,400,000	4,320,000	18,720,000
2011年度	12,200,000	3,660,000	15,860,000
2012年度	12,200,000	3,660,000	15,860,000
総計	67,000,000	20,100,000	87,100,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：情報学・生体生命情報学、脳神経科学・神経科学一般

キーワード：行動解析、カルシウムイメージング、数理モデル、神経モデル

1. 研究開始当初の背景

線虫は、全てのニューロン間の結合が明らかになっており、運動や行動パターンが明瞭である。従ってこの生物は、行動計測実験と神経回路理論が互いに影響を及ぼし合う研究に適している。環境から入る多数の信号の

相互作用が動物の行動に影響を及ぼしている。神経科学において、行動選択は興味深い研究対象であり、それに関する研究には単純な現象から複雑なものを対象にする研究まで多数あるが、神経回路レベルでのメカニズムは不明なことが多い。本研究を担当する研

研究者は、情報工学、物理学、生物学を基盤に線虫の行動を研究してきた。それらの中には、移動運動の研究と、2種類の誘引刺激を与えた場合の行動選択に関する研究が含まれている。前進運動時間に大きく関与する神経細胞を決め、2種刺激の同時提示に対して線虫がどちらにより強く反応するかを調べた。線虫では電気生理実験が困難なため、神経回路内の情報処理に関しては未解明の事が多い。神経系情報処理を介した行動選択の研究を行うには、行動の定量的評価、細胞内カルシウムイオン濃度変化の測定、神経系の行動制御を理解するための理論が必要であり、実験と理論が緊密に影響し合う研究体制の必要性が認識された。数理モデルの研究では、ニューロン間結合データベースが作成され、接触刺激に関わる神経回路、移動運動に関するモデル、温度走性による線虫の分布の研究があった。しかし、大規模な数理モデル及びそれを元にした行動モデルは無く、他の生物にさきがけてその開発が求められていた。

2. 研究の目的

計測と数理的解析・モデル化により、*C. elegans*に2種類の誘引性感覚刺激を同時に与えた場合の行動選択の神経系制御機構に関する次の研究を行う。

(1) 行動選択の神経メカニズムを、一匹毎の線虫の詳細な行動解析と細胞内カルシウムイオン濃度変化計測により解明する。特に誘引性温度が化学走性に与える影響の神経機構を解明する。

(2) 特定のニューロンに異常を持つ変異体及び行動選択に関する変異体の表現型を解析する

(3) 走性データの統計解析と数理モデルの作成・解析により行動レベルで制御機構を解明する。

(4) 少数ニューロンからなる回路モデルの作成・解析により、行動選択の制御機構を解明する。

(5) 全ニューロンを考慮した回路モデルの作成・解析により神経系全体からの考察を行う。

3. 研究の方法

一匹毎の線虫の統計解析を行う為にソフトウェアを充実させる。それらを用いて、移動運動の量的な解析、および温度と化学物質または2つの誘引物質を同時に別な位置に提示した場合の行動選択についての解析、酸に対する忌避行動の解析を進める。これらの研究に関連し変異体、および特定のニューロンを欠失させた細胞破壊系統種の行動を解析する。

細胞内カルシウムイオン濃度変化の測定により2入力の神経系内での相互作用を研究

する。

行動の数理モデルを作成して行動解析結果の解釈に役立てる。

細胞内カルシウム濃度変化や蛍光強度変化を微分方程式で記述したニューロンモデルおよび小規模な感覚情報処理神経回路モデルを作成する。モデルの計算結果を実験結果と比較する。また、全ニューロンを考慮した回路モデルを構築し、神経系全体から考察することを目指す。

数理モデルに関して領域内の他の研究グループとの連携研究を進める。

4. 研究成果

(1) 研究目的の項目(1)および(2)に関する研究成果。2つの誘引刺激に対する行動選択の研究の基礎として、一様な誘引物質存在下で他の誘引物質への走性行動を調べた。虫の動きの速さ・方向転換などの行動解析を行い、且つ細胞内カルシウムイオン濃度変化を計測した。その結果、塩と誘引性匂いの2つの感覚情報が神経系内で相互作用し、それが行動に表れることを見出した。細胞破壊系統および既存の変異種を用いた行動を含めて、これらをまとめて学術論文として投稿中である。

酸に対する忌避行動において、後退とターンのどちらを線虫が採るかの行動選択に関して行動データを解析した。コンピュータシミュレーションの結果は行動実験結果を良く説明した。これらの研究結果を国際会議で発表し(Wakabayashi, Sakata Shingai, EMBO Conference Series: *C. elegans* Neurobiology, 2012, Heidelberg, Germany)、変異種の解析を含めて学術論文として投稿した。

一方、温度と誘引物質の同時刺激に関する行動解析については、解析ソフトウェア制作の遅れから収録した実験データの解析過程にある。

(2) 研究目的の項目(3)に関する研究成果。線虫の移動運動は体全体の波状の運動によりなされるが、頭は複雑な動きをする。これまで頭の動きを解析した報告はほとんどなかった。そこで、頭の動きの新規評価法を提案した。寒天プレート上を自由に動く線虫について頭の軌跡が、①頭の軌跡の区間平均により得られる線、②頭から体長の5%尾側寄りの点の軌跡、③体の midpoint の軌跡、の夫々を横切る交点を求めて、交点間の頭部軌跡の長さのヒストグラムを作成すると、夫々次の事が判明した。①では、ほとんどの種で、発達段階が若齢と共に頭部運動の不規則性(図1横軸 <0.2成分)が増大し、それは神経伝達物質GABAを欠損した変異体(*unc-25*)で顕著である。しかし、セロトニン欠損種(*tph-1*)

では若い成虫でも老化した虫と同様に不規則性は大きい (図 1)。②では、変異種に依存して、例えばAMPA型グルタミン酸受容体に欠陥のある変異種とNMDA型グルタミン受容体に欠陥のある変異種の間では、頭先端の振り幅が異なる。③では、頭の運動が体中心の動きに成虫 3 日目から強く同期する種が多い (図 2)。これらの結果を学術論文として発表した (Shingai et al., *Front. Behav. Neurosci.*, 2013)。本報告は、頭の動きの複雑さを解析した最初のものであり、この方法は線虫の行動を研究する上で広く使用されると予想している。

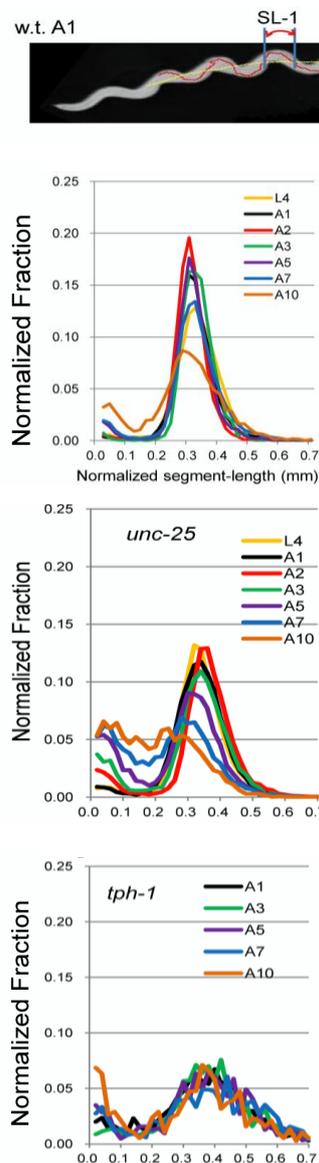


図 1 上図:前進する線虫の画像を重ね合わせ。頭の軌跡が、頭の軌跡を区間平均して得られる線を横切る交点を求め、交点間の頭部軌跡の長さ (SL-1) を算出した。下図: ヒストグラム (横軸は体長を 1 mm と規格化した場合の SL-1) を線虫の年齢 (age :

L1, A1, ..., A10) 毎に描いた。

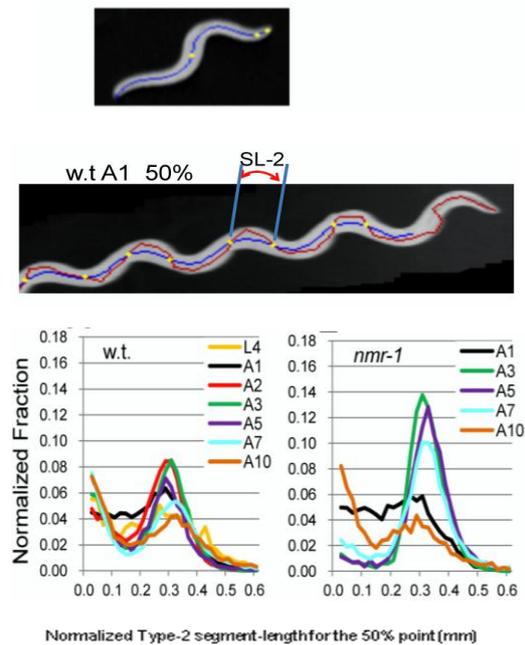


図 2 上図:頭の軌跡が、体の中点の軌跡を横切る交点を求めて、交点間の頭部軌跡の長さ (50% SL-2) を算出する。下図:野生種 (w.t.) と NMDA 型グルタミン酸受容体に欠陥のある変異体 (*nmr-1*) の 50% SL-2 のヒストグラム。成虫 1 日目 (A1) と 3 日目 (A3) の間で、ヒストグラムの形に大きな違いがある。大きなピークは、頭先端の動きの周期と体の中点の動きの周期が同様であることを示す。

線虫の走性行動において、誘因性又は忌避性物質の濃度勾配や温度勾配は、行動を決める重要な要因である。これらの勾配を物理化学的な計算式から求めることは、勾配が行動に与える影響を解釈するために必要である。そこで実験で使用されている物質の濃度勾配を算出して、その結果を国際会議で発表した (Iwasaki et al., 5th East Asia C. elegans Meeting, 2012, Taipei, Taiwan)。

(3) 研究目的の項目 (4) に関する研究成果。線虫の神経細胞の細胞内情報処理経路に関して公表された実験事実は限られている。嗅覚感覚神経細胞 AWC は、匂刺激に対する細胞内情報処理経路に関する情報が、線虫の中では比較的多く文献に有る細胞である。そこで、線虫の細胞内情報処理モデルの対象に AWC ニューロンを選んだ。モデルでは情報伝達物質の濃度変化や物質間の相互作用を微分方程式で記述した。その結果、匂刺激に対する細胞内カルシウム濃度変化

の実験事実を再現することに成功した (図3)。これらの結果を学術論文に発表した (Usuyama, Ushida and Shingai, PLoS ONE, 2012)。これまで線虫神経細胞内の情報伝達経路を数式で表現することはほとんど手付かずであったので、本研究でそれを実現できたことに意義がある。

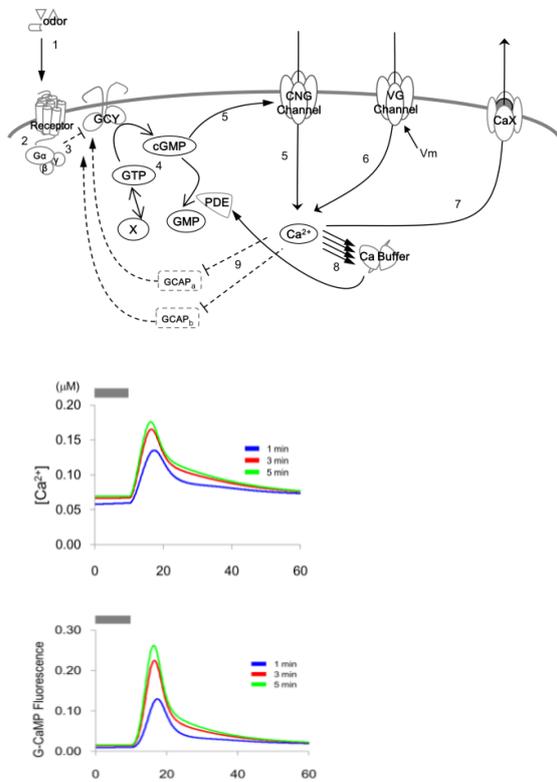


図3 匂刺激に対するAWC神経細胞の細胞内情報処理経路の応答モデル。上図：モデルの模式図。T字は抑制、矢印は促進を表す。図左上の受容体に匂物質が結合すると、GCYが抑制される。匂物質が受容体から離れると、GCYが活性化してサイクリックGMPが産生されてCNGイオンチャネルを活性化してカルシウムイオンが流入する。カルシウムイオン濃度が上昇すると、それを抑える回路が働き減少に転じる。下図：匂刺激終了後の反応。上から順に、カルシウムイオン濃度および蛍光プローブG-CaMPの蛍光強度の変化。匂刺激を1, 3, 5分間と長くするに従い、刺激終了後の反応は大きくなり、実験結果を再現する。

塩の感覚神経細胞ASEのカルシウムイメージングデータ (東大・飯野研究室) をもとに、膜電位、カルシウムバッファ濃度、カルシウムイオン濃度、蛍光プローブ濃度を連立させた神経細胞モデルを構築した。蛍光プローブとカルシウムイオンの親和性とキネティクスを考慮しており、蛍光プローブG-CaMPとY

ellow Cameleonを扱うことができる。イオンチャネルの膜電位依存性や細胞内カルシウムイオン濃度の膜電位依存性も推定可能となった。これらの結果を国際会議と本領域主催の「システム分子行動学」数理シンポジウムで発表した (Kuramochi & Iwasaki, 17th International Conference on Neural Information Processing, 2010; 岩崎, 「システム分子行動学 数理シンポジウム」, 2012, 東大)。また、その結果を塩への走性行動に関する小規模な神経回路モデル (図4) に応用して、国際会議で発表した (Iwasaki, Kuramochi, Sakata, Oda, Iino, Shingai, 18th International C. elegans Meeting, 2011, USA 飯野班との共同研究)。線虫の小規模回路の精密なモデルは本研究以外に世界的にほとんど見られないが、各神経細胞の役割が高等生物よりも大きい線虫では意味がある。尚、上記の「数理シンポジウム」は計画班員の辻、増田、新貝がオーガナイザーとなって企画された。

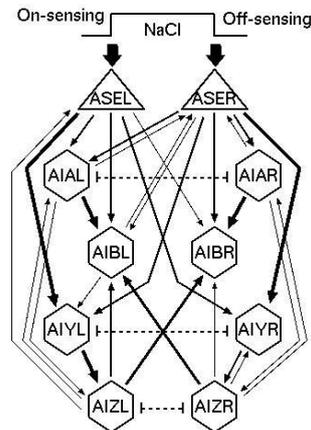


図4 塩への走性行動に関する小規模神経回路。細胞間の矢印は化学シナプス結合を、点線はギャップ結合を表す。塩刺激濃度を上下すると、夫々ASEL, ASERが主に反応する。

(4) 研究目的の項目 (5) に関する研究成果。線虫頭部の神経回路を対象として、同じクラスに属する左右一対の神経細胞を1個の神経細胞で置換えて簡略化した回路について、塩への化学走性、匂い物質への誘因走性、忌避走性、高温度の刺激に対する忌避走性に対して、移動運動の前進/後退を決めるコマンドニューロンが適切に反応し且つ首振りが行われるようにシナプス結合の興奮/抑制を設定することができた (図5)。これらの結果を国際会議で発表した (Shingai, Takahashi, Iwasaki, Neuroscience2011, 2011, Washington DC)。現在、新しい実験事実 (Hendricks et al.2012) を取り入れたモデルに改良しつつある (辻班との共同研究)。また、3

02個全てのニューロンから成る神経回路の結線をプログラム上で繋いで、この全神経回路の動作を調べる基盤を作った。線虫の大規模神経回路の研究は欧米でも進行中なので、夫々の特徴を生かした神経回路全体のモデルが作られて行くと予想している。

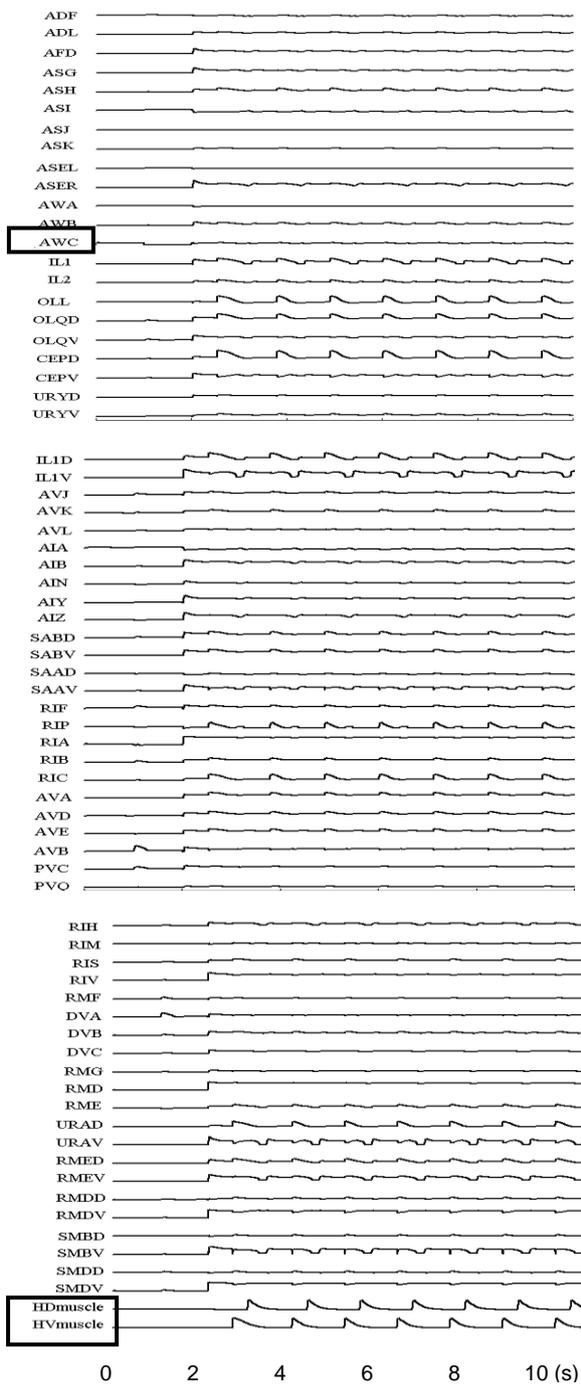


図5 頭部神経回路の膜電位応答。AWC嗅覚ニューロン(上図左の四角)に1-2秒間負のパルスを入力。入力終了後に回路全体が反応して線虫の頭の背側と腹側の筋肉(下図の四角)を交互に興奮させる。左の英字は神経細胞名または筋肉を示している。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5件)

① Shingai R., Furudate M., Hoshi K., Iwasaki Y. (2013). Evaluation of head movement periodicity and irregularity during locomotion of *Caenorhabditis elegans*. *Front. Behav. Neurosci.* 7:20.

doi:10.3389/fnbeh.2013.00020. 査読有

② Usuyama, M., Ushida, C., Shingai, R. (2012). A model of the intracellular response of an olfactory neuron in *Caenorhabditis elegans* to odor stimulation. *PLoS ONE* 7(8): e42907. doi:10.1371/journal.pone.0042907 査読有

③ Yoshida, K., Hirotsu, T., Tagawa, T., Oda, S., Wakabayashi, T., Iino, Y., Ishihara, T. (2012). Odour concentration-dependent olfactory preference change in *C. elegans*. *Nature Comms.* 3, 739. doi: 10.1038/ncomms1750 査読有

④ Kuramochi, M., Iwasaki, Y. (2010). Quantitative modeling of neuronal dynamics in *C. elegans*. *Lecture Notes in Computer Science* (Springer-Verlag). 6443, 17-24. 査読有

⑤ Wakabayashi T., Kimura, Y., Ohba, Y., Adachi, R., Satoh, Y., and Shingai, R. (2009). *In vivo* calcium imaging of OFF-responding ASK neurons in *C. elegans*. *BBA Gen. Subj.* 1790, 765-769. doi: 10.1016/j.bbagen.2009.03.032 査読有

[学会発表] (計 32件)

① 若林篤光、(他2名)、富田浩史 「線虫は、幼生の生育や成虫の運動に対して毒性を持つレア・アース元素を化学感受器で検出し、忌避行動を示す」 第35回日本分子生物学会年会、2012年12月11日-14日、福岡国際会議場(福岡県)

② Iwasaki, Y., Ichijo, H., Shingai, R., Yamazoe, A., Kimura, K. "Computational evaluation of odor gradient in chemotaxis assay" 5th East Asia *C. elegans* Meeting, 2012年6月27日-30日, Taipei (Taiwan)

③ Wakabayashi, T., Sakata, K., Shingai, R. "Navigational decision-making during acidic pH avoidance in *C. elegans*" *EMBO Conference Series: C. elegans Neurobiology*, 2012年6月14日-17日, Heidelberg (Germany)

④ 岩崎唯史 「線虫のニューロンと蛍光Ca²⁺インジケータに関する動的モデル」 新学術領域「システム分子行動学」数理シンポジウ

ム、2012年5月11日-12日、東京大学（東京都）

⑤Usuyama, M., Shingai, R., Ichinose, M. “Intracellular response model of an olfactory neuron in *C. elegans*”. Neuroscience 2011, 2011年11月12日 - 16日, Washington DC (USA)

⑥Shingai, R., Takahashi, H., Iwasaki, Y. “Neural circuit model for head swing and forward/backward movement of *C. elegans*”. Neuroscience 2011, 2011年11月12日 - 16日, Washington DC (USA)

⑦一條宏, 若林篤光, (他3名), 新貝鉦蔵 (2011) 「線虫 *C. elegans* 嗅覚受容ニューロンは味覚刺激により活性化する」 第34回日本神経科学大会 P4-K17, 2011年9月14日 - 17日, パシフィコ横浜 (神奈川県)

⑧坂田和実, 山田雅史, 岩崎唯史, 秋田宙樹, 若林篤光, 新貝鉦蔵, 小栗栖太郎 「非対称性を取り入れた線虫感覚神経系のコンピュータシミュレーション」 第34回日本神経科学大会 P4-u06, 2011年9月14日 - 17日, パシフィコ横浜 (神奈川県)

⑨Shingai, R., Takahashi, H., Iwasaki, Y., Ogurusu, T. 「*C. elegans* のモデル神経回路における周期的興奮(Periodic excitation in a model neural network of *C. elegans*)」 第34回日本神経科学大会 Oral Session, 2011年9月14日 - 17日, パシフィコ横浜 (神奈川県)

⑩Iwasaki, Y., Kuramochi, M., Sakata, K., Oda, S., Iino, Y., and Shingai, R. “Neuronal modeling toward quantitative understanding of nervous system of *C. elegans*” 18th International *C. elegans* Meeting, 545C, 2011年6月22日 - 26日, UCLA, CA (USA)

⑪ Kuramochi, M., Sakata, K., Shingai, R., Iwasaki, Y. Dynamical model variables, calcium imaging and design of *C. elegans* neuron. The 7th Asian Biophysical Association Symposium, 招待講演, 2011年1月30日, New Delhi (India)

⑫Kuramochi, M., Iwasaki, Y. “Quantitative modeling of neuronal dynamics in *C. elegans*”. 17th International Conference on Neural Information Processing (ICONIP 2010), 2010年11月22日, Sydney (Australia)

⑬ Shingai, R., Takahashi, H., Iwasaki, Y., Sakata, K., Wakabayashi, T., Ogurusu, T. “Computer simulation for neural network of *C. elegans*”. 4th East Asia *C. elegans* Meeting, 2010年7月11日 - 14日, 国立オリンピック記念青少年記念センター (東京都)

⑭Shingai, R. “Simultaneous presentation of two attractants modifies taxis behavior in *C. elegans*”. 第87回日本生理学会大会, 2010年5月19日 - 21日, マリオス、盛岡 (岩手県)

⑮宇壽山 衛、(他2名)、新貝鉦蔵 「*C.エレ*

ガンス嗅覚受容ニューロンの細胞内Ca²⁺応答モデル」 第19回日本数理生物学会年会, 2009年9月9日 - 11日, 東京大学 (東京都)

⑯祝田尚之, 岩崎唯史, 若林篤光, 新貝鉦蔵 「*C.エレガンス*の部分神経回路のシミュレーション」 BPES 2009 第24回生体・生理工学シンポジウム (依頼講演), 2009年9月24日 - 26日, 東北大学 (宮城県)

⑰新貝鉦蔵 「複数入力に対する行動選択」 日本生物物理学会東北支部会シンポジウム (招待講演) 2009年9月11日, 東北大学 (宮城県)

⑱Wakabayashi, T., Togashi, T., Shingai, R. “Behavioral decision-making during acidic pH avoidance in *C. elegans*”. 17th International *C. elegans* Meeting, 536B, 2009年6月24日 - 28日, UCLA, CA (USA)

⑲若林篤光, (他3名), 新貝鉦蔵 「線虫 *C. elegans* の ASK 感覚神経細胞のカルシウムイメージング」 第31回日本分子生物学会年会, 2008年12月11日, 神戸ポートアイランド (兵庫県)

〔その他〕
ホームページ
http://ims.dse.ibaraki.ac.jp/research/C_elegans.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

新貝 鉦蔵 (SHINGAI RYUZO)
岩手大学・工学部・教授
研究者番号：00089088

(2) 研究分担者

岩崎 唯史 (IWASAKI YUISHI)
茨城大学・工学部・助教
研究者番号：50282281

(3) 研究分担者

若林 篤光 (WAKABAYASHI TOKUMITSU)
岩手大学・工学部・助教
研究者番号：30332498

(4) 連携研究者

五味 壮平 (GOMI SOHEI)
岩手大学・人文社会科学部・准教授
研究者番号：30271836

(5) 連携研究者

坂田 和実 (SAKATA KAZUMI)
岩手大学・工学部・助教
研究者番号：80261163