

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：27103

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06772

研究課題名(和文) ナメクジにおける視覚情報伝達の投射様式の解明

研究課題名(英文) Mode of transmission of visual information from the eye to the brain in the terrestrial slug

研究代表者

松尾 亮太 (Matsuo, Ryota)

福岡女子大学・国際文理学部・教授

研究者番号：40334338

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ナメクジの大触角先端には高感度のレンズ眼が備わっており、その網膜にある視細胞は脳に向けて直接に神経投射を行っている。代表者らは、網膜視細胞がその位置により異なる神経ペプチドを用いて投射を行っていることを明らかにした。さらに、脳内の視神経終末であるoptic neuropileにおいて、眼からの光情報と脳で感知した光情報が統合されていることも明らかにした。本研究の結果は、ナメクジの眼から脳に向けた求心性投射が思いのほか高度に秩序だったものであることを示している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ナメクジはレンズの備わった高感度な眼を持つが、その分子レベルでの組織学的特徴や脳に向けた投射様式については研究があまりなされていなかった。今回、眼から脳に向けた求心性投射様式が思いのほか秩序だったものであることが明らかになった。また、ナメクジは脳だけで光を感知して暗い場所へと逃げ込める能力を持つことがこれまでの代表者らの研究から明らかになっていたが、本研究で、脳で感知した光情報と眼で感知した光情報が脳内の視神経終末部(optic neuropile)で統合されていることが分かった。この結果は、眼で光を感知しても脳で光を感知しても負の光走性行動に結びつくことに対し、組織学レベルでの裏付けを与えた。

研究成果の概要(英文)：The superior tentacle of the terrestrial slug *Limax* is equipped with a lens-bearing eye on the tip. The photoreceptors in the retina directly project to the brain. We found that distinct peptide neurotransmitters are used for the afferent projection by photoreceptors. We also found that the light information acquired by brain photosensory neurons is integrated with that conveyed from the tentacular eye in the optic neuropile, the terminal region of optic nerves in the brain. Our findings uncovered an unexpectedly highly ordered way of afferent projection of photic information from the eye to the brain in *Limax*.

研究分野：分子神経生物学

キーワード：eye extraocular photosensing optic neuropile neuropeptide

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

軟体動物腹足類であるナメクジの触角先端に位置する眼は、脊椎動物に似た球状レンズ眼であるが、その網膜は約 300 個の大型視細胞 (Type-I 視細胞) と、それよりも多くの小型視細胞 (Type-II 視細胞) から成る単層の構造をしており、視細胞自身が脳へ向けた求心性投射も行っている。代表者は視細胞が網膜上の位置によって異なる神経伝達物質 (ニューロペプチド) を用いて脳へ投射していることを見出ししていたが、その全貌は明らかになっていなかった。また、視神経が脳に入力した後、どういった経路を通って行き、どこに投射するのか、といったことについても十分には分かっていなかった。さらに、ナメクジは両眼を用いて明るい場所から逃げる行動 (負の光走性行動) を示すが、両眼を失った場合でも脳で光を感知して負の光走性行動を起こすことができる。このため、眼で感知した光情報と脳で感知した光情報が脳内のどこかで統合されていることが予想されたが、それぞれの光情報が脳内でどのような神経経路を通じて伝達されてゆくのか不明であった。

2. 研究の目的

本研究では、ナメクジにおいて眼からの光情報の投射様式の詳細、および眼と脳で感知した光情報がどのような経路を通じてどのように統合されるかを知るため、以下の目標を設定し、実験を行った。

- 1) 網膜の各部位で用いられているニューロペプチドの種類を確定し、網膜全体での発現マップを作成する。
- 2) 各ニューロペプチドを神経伝達物質として用いている視細胞の投射先が、脳内でどのように位置的に棲み分けているかを明らかにする。
- 3) 脳内の視覚情報伝達経路の全貌を、眼からの視覚情報経路との関係も含めて組織化学的に明らかにする。

3. 研究の方法

上記の 1) ~ 3) について、それぞれ用いた研究方法を以下に記す。

- 1) これまでにナメクジの中樞神経系で発現していることが知られているニューロペプチド (Ahn et al. 2017; Matsuo et al. 2018) の幾つかについて、その前駆体をコードする mRNA の発現を *in situ hybridization* 法により調べ、眼の網膜で使用されている可能性を網羅的に検討した。さらに、同定されたニューロペプチドに対する特異的抗体を作成し、これらを用いて眼の網膜におけるニューロペプチドの発現マップを作成した。
- 2) 免疫組織染色により網膜から脳に向けた光情報の投射先終末 (optic neuropile) の分子解剖学的構造を解析した。
- 3) optic neuropile 以外の脳内投射先についても、トレーサー分子と上記抗体を組み合わせた組織解析を行い、脳内光感知系との間の関係性についても調べた。

4. 研究成果

1) ナメクジの一種 (*Deroceras*) の中樞神経系において発現しているニューロペプチド遺伝子のトランスクリプトーム解析 (Ahn et al. 2017) および研究代表者らによって見出されたチャコウラナメクジ (*Limax*) の RFamide 族ニューロペプチド遺伝子群リスト (Matsuo et al. 2018) の情報等に基づいてピックアップされた遺伝子の *in situ hybridization* による解析により、ニューロペプチドをコードすると予想される 12 種類の遺伝子 (WWamide, enterin, MIP1, MIP2, FxRIamide1, FxRIamide2, PH4, PH4var, clionin, pedal peptide, PP2, myomodulin1) がチャコウラナメクジの眼の網膜で発現していることが分かった。このうち、pedal peptide がコードするペプチドについては特異的な抗体を既に有していたため (Matsuo et al. 2018) clionin を除く 10 個の遺伝子がコードするペプチドに対して新たに抗体を作成することを試みた。(clionin は分子内 S-S 結合を含む複雑かつ大きなペプチドをコードすることが予想されたため、抗体の作成は断念した。) その結果、WWamide, enterin, MIP1 (と MIP2 が共通にコードするペプチド) FxRIamide1 (と FxRIamide2 が共通にコードするペプチド) PP2, myomodulin の 8

つに対する特異的な抗体の作成に成功した。なお、PH4（と PH4var が共通にコードするペプチド）に対する抗体は、免疫組織化学染色で使用可能なものを作ることができなかった。

in situ hybridization および上記抗体を用いた免疫組織化学染色による結果に基づき、網膜において発現するニューロペプチドのマッピングを作成した（図1、Matsuo and Matsuo 2022）。

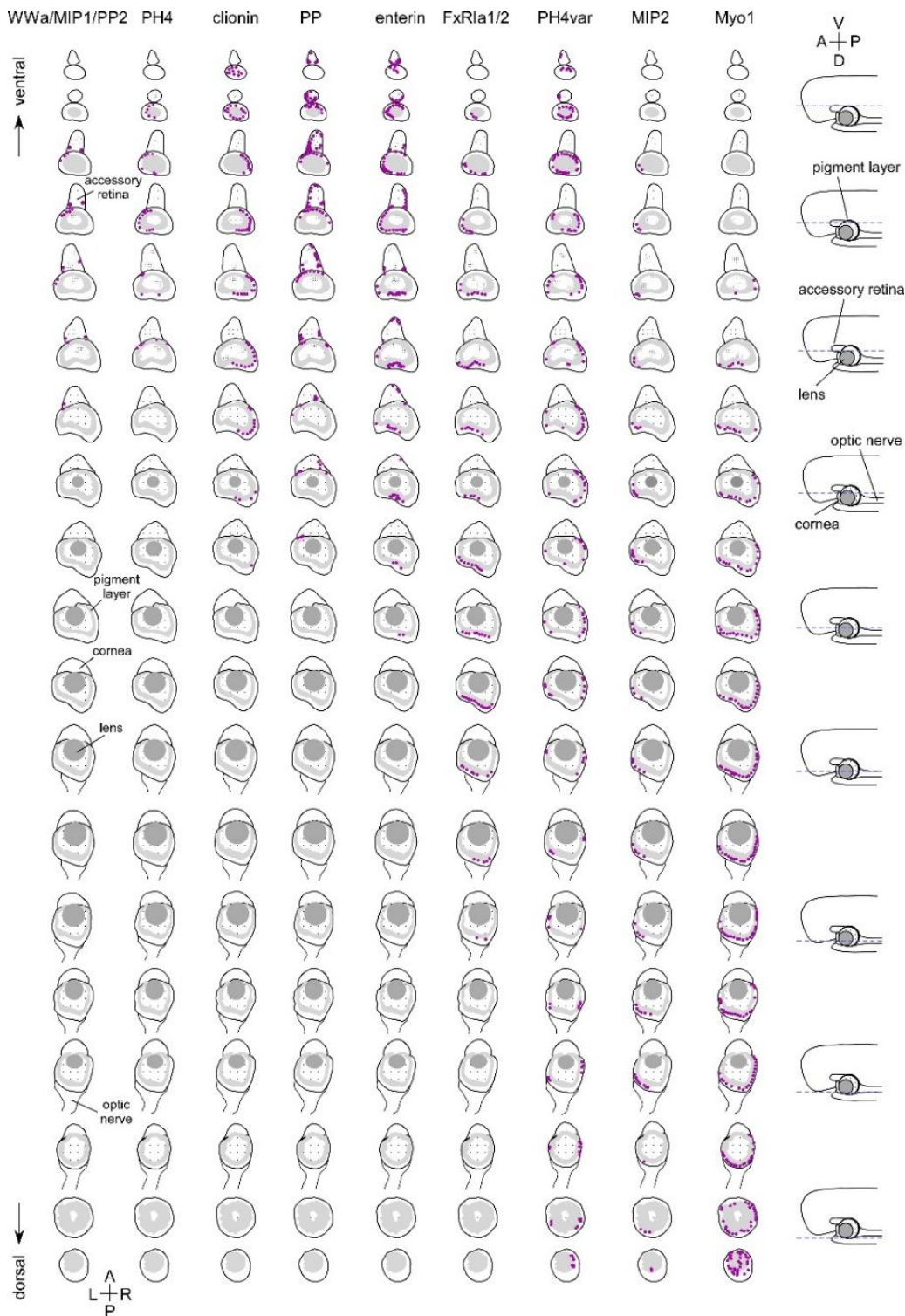


図1
網膜
にお

けるニューロペプチド遺伝子の発現マップ（Matsuo and Matsuo 2022）。右の図は大触角を側面から見た図を用いて切片の作成面を示している。

2) 視神経断端からトレーサー分子（ニューロピオチン）を取り込ませた脳を固定、薄切し、上記ニューロペプチドそれぞれに対する抗体で免疫組織染色を行ったところ、optic neuropileに達する直前の段階で、各ニューロペプチドを含有する視神経線維が視神経束内でそれぞれ特有の位置を占めていることを見出した（Matsuo and Matsuo 2022、図2）。ただし、脳内の optic neuropile 近傍には、脳のニューロンに発現しているニューロペプチドの線維が多く存在してい

るため、optic neuropile 内での各ニューロペプチドの局在までは明らかにすることができなかった。

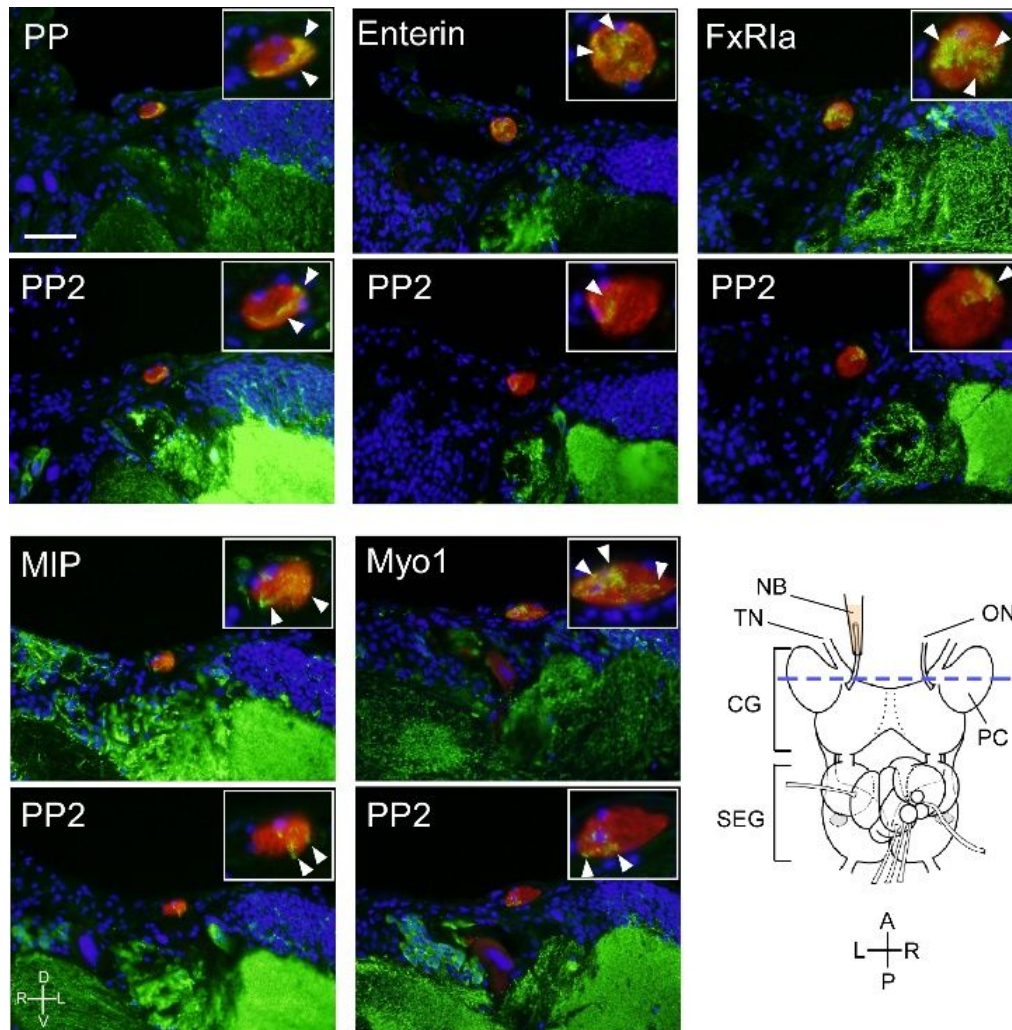


図2 視神経束が脳に入る部位におけるニューロペプチドの局在。赤はニューロピオチン、緑はニューロペプチド、青は核の分布を示す (Matsuo and Matsuo 2022)。

3) 上記2)と同様に、視神経束断端からニューロピオチンを取り込ませると、optic neuropile の他、対側の大脳神経節にあるニューロン細胞体のクラスターにもニューロピオチンが取り込まれることが分かった。さらなる解析の結果、これらニューロンは視物質を構成するタンパク (オプシン) である Opn5A を発現していることが分かった。加えて、細胞外記録の結果、これら Opn5A 陽性ニューロンは大脳神経節交連を介して対側の optic neuropile へと光情報を送っていることも明らかになった (Matsuo et al. 2020)。この結果から、眼から入力した光情報は、脳で感知された光情報と optic neuropile において統合されていることが示唆された。

<引用文献>

- Ahn SJ, Martin R, Rao S, Choi MY (2017) Neuropeptides predicted from the transcriptome analysis of the gray garden slug *Deroceras reticulatum*. *Peptides* 93, 51-65.
- Matsuo Y, Yamanaka A, Matsuo R (2018) RFamidergic neurons in the olfactory centers of the terrestrial slug *Limax*. *Zoological Lett* 4, 22.
- Matsuo Y, Nishiyama H Matsuo R (2020) Integration of ocular and non-ocular photosensory information in the brain of the terrestrial slug *Limax*. *J Comp Physiol A* 206, 907-919.
- Matsuo R, Matsuo Y (2022) Regional expression of neuropeptides in the retina of the terrestrial slug *Limax valentianus* (Gastropoda, Stylommatophora, Limacidae). *J Comp Neurol* 530, 1551-1568.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Matsuo Ryota, Kotoh Sanae, Takishita Kiyotaka, Sakamoto Katsuhiko, Uebi Tatsuya, Ozaki Mamiko, Matsuo Yuko, Nishi Takako	4. 巻 243
2. 論文標題 Opsins in the Cephalic and Extracerebral Photoreceptors in the Marine Gastropod <i>Onchidium verruculatum</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Biological Bulletin	6. 最初と最後の頁 339 ~ 352
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1086/723013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nishi Takako, Sakamoto Katsuhiko, Matsuo Ryota	4. 巻 274
2. 論文標題 Compensation mechanism for membrane potential against hypoosmotic stress in the <i>Onchidium</i> neuron	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology	6. 最初と最後の頁 111298 ~ 111298
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cbpa.2022.111298	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Matsuo Ryota, Matsuo Yuko	4. 巻 530
2. 論文標題 Regional expression of neuropeptides in the retina of the terrestrial slug <i>Limax valentianus</i> (Gastropoda, Stylommatophora, Limacidae)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Comparative Neurology	6. 最初と最後の頁 1551 ~ 1568
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cne.25296	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kunichika Kasumi, Matsuo Ryota	4. 巻 53
2. 論文標題 Statocyst is necessary for the negative gravitaxis behavior of the terrestrial slug <i>Limax valentianus</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 人と環境 (福岡女子大学大学院人間科学研究科紀要)	6. 最初と最後の頁 9-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamanaka Amami, Kobayashi Suguru, Matsuo Yuko, Matsuo Ryota	4. 巻 141
2. 論文標題 Fxr1amide regulates the oscillatory activity in the olfactory center of the terrestrial slug <i>Limax</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Peptides	6. 最初と最後の頁 170541 ~ 170541
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.peptides.2021.170541	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsuo Yuko, Nishiyama Haruka, Matsuo Ryota	4. 巻 206
2. 論文標題 Integration of ocular and non-ocular photosensory information in the brain of the terrestrial slug <i>Limax</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Comparative Physiology A	6. 最初と最後の頁 907 ~ 919
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00359-020-01447-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsuo Ryota, Kobayashi Suguru, Furuta Arisa, Osugi Tomohiro, Takahashi Toshio, Satake Honoo, Matsuo Yuko	4. 巻 206
2. 論文標題 Distribution and physiological effect of enterin neuropeptides in the olfactory centers of the terrestrial slug <i>Limax</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Comparative Physiology A	6. 最初と最後の頁 401 ~ 418
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00359-020-01400-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nishiyama Haruka, Nagata Akane, Matsuo Yuko, Matsuo Ryota	4. 巻 222
2. 論文標題 Light avoidance by non-ocular photosensing system in the terrestrial slug <i>Limax valentianus</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Biology	6. 最初と最後の頁 jeb208595
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/jeb.208595	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsuo Ryota, Koyanagi Mitsumasa, Nagata Akane, Matsuo Yuko	4. 巻 527
2. 論文標題 Co expression of opsins in the eye photoreceptor cells of the terrestrial slug <i>Limax valentianus</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Comparative Neurology	6. 最初と最後の頁 3073 ~ 3086
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cne.24732	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 松尾亮太
2. 発表標題 ナメクジにおける光感知機構
3. 学会等名 第44回 日本比較生理生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Matsuo R, Kotoh S, Takishita K, Sakamoto K, Uebi T, Ozaki M, Matsuo Y, and Nishi T
2. 発表標題 Opsins in the cephalic and extracephalic photoreceptors in the marine gastropod <i>Onchidium verruculatum</i>
3. 学会等名 第44回 日本比較生理生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松尾亮太、松尾優子
2. 発表標題 ナメクジの網膜視細胞における部位特異的なニューロペプチドの発現
3. 学会等名 第92回 日本動物学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Matsuo R, Koyanagi M, Sugihara T, Matsuo Y, Terakita A
2. 発表標題 Five opsins sensitive to blue to green lights are co-expressed in the eye photoreceptors of the terrestrial slug <i>Limax</i>
3. 学会等名 第43回 日本比較生理生化学会大会 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Matsuo Y, Nishiyama H, Matsuo R
2. 発表標題 Integration of ocular and non-ocular photosensory information in the brain of the terrestrial slug <i>Limax</i>
3. 学会等名 比較生理生化学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Matsuo R
2. 発表標題 Aversive olfactory learning in the terrestrial slug
3. 学会等名 ICCPB2019 (オタワ) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西山春佳、永田茜、小柳光正、松尾優子、松尾亮太
2. 発表標題 チャコウラナメクジにおける非眼性の光忌避行動と光感知機構
3. 学会等名 第90回日本動物学会大会 (大阪)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Matsuo R, Kobayashi S, Furuta A, Osugi T, Takahashi T, Satake H, Matsuo Y
2. 発表標題 Distribution and physiological effect of enterin neuropeptides in the olfactory centers of the terrestrial slug <i>Limax</i>
3. 学会等名 日本比較生理生化学会第41回大会（東京）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamanaka A, Matsuo R
2. 発表標題 Analysis of efferent projection neurons between the higher olfactory centers of the terrestrial slug <i>Limax</i>
3. 学会等名 日本比較生理生化学会第41回大会（東京）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nishiyama H, Nagata A, Matsuo Y, and Matsuo R
2. 発表標題 Light sensing and avoidance by a non-ocular system in <i>Limax valentianus</i>
3. 学会等名 日本比較生理生化学会第41回大会（東京）（国際学会）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 二河成男、小柳光正、松尾亮太、岡良隆、平田普三	4. 発行年 2023年
2. 出版社 放送大学教育振興会	5. 総ページ数 288
3. 書名 感覚と応答の生物学（放送大学教材）	

1. 著者名 松尾亮太	4. 発行年 2020年
2. 出版社 さくら舎	5. 総ページ数 188
3. 書名 考えるナメクジ	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>福岡女子大学研究者データベース http://www.fwu.ac.jp/teachersdatabase/detail/?masterid=61&gakkaid=202&gakubuid=20 福岡女子大学神経生物学研究室HP http://www.fwu.ac.jp/~matsuor/ResearchMap https://researchmap.jp/matsuor/</p>

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------