

令和 5 年 6 月 11 日現在

機関番号：23903

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19274

研究課題名（和文）遺伝学とイメージングによる「感情」の基本原理の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the Fundamental Principles of 'Emotions' through Genetics and Imaging

研究代表者

木村 幸太郎（Kimura, Kotaro）

名古屋市立大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：20370116

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、「感情」の原理を明らかにするために、モデル生物*C. elegans*の電気刺激に対する応答行動を研究対象とした。手法としては、遺伝学的手法により電気刺激応答に関与する遺伝子を同定し、また高速三次元イメージングにより全脳神経活動の変化を観察した。結果として、電気刺激応答にL型膜電位依存性Ca⁺⁺チャンネルや神経ペプチドの前駆タンパク質転換酵素が関与することを明らかにした。さらに、全脳神経活動の計測から持続的応答行動に関与するであろう神経活動が観察された。これらの結果は、「感情」を生み出す基本的メカニズムの新たな理解へとつながると期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

動物の「感情」の研究は、チャールズ・ダーウィン卿による著書まで遡ることができる（Darwin 1872）。しかし、「感情」は複雑であるが故に厳密な定義が困難であり、モデル動物を用いた解析は齧歯類の「すくみ」などに限定されていた。本研究で、線虫*C. elegans*の「感情」に関わる遺伝子や神経活動の手掛かりを得ることができたので、これらの研究を進めることによって、モデル動物はもちろんヒトの「感情」に関する研究の飛躍的発展のきっかけとなることが期待できる。

研究成果の概要（英文）：To analyze the fundamental principles of "emotions", we utilized the behavioral response of the model organism *C. elegans* to electrical stimuli. We tried to identify genes involved in the response to electrical stimulation through genetic analysis and observed the changes in whole-brain neural activity through high-speed three-dimensional imaging. As a result, we found that L-type voltage-gated Ca⁺⁺ channel and proprotein convertase required for neuropeptide maturation are involved in the response to electrical stimulation. Furthermore, from the whole-brain imaging, neural activities involved in persistent response behavior were observed. These results could lead to a new understanding of the mechanisms underlying emotion generation.

研究分野：神経科学

キーワード：感情 遺伝学的解析 イメージング

1. 研究開始当初の背景

神経科学において近年注目されつつある高次脳機能は「感情」である。「感情」は定義が確立されていなかったために、基礎的な研究が長年進んでいなかった。現時点では、「感情」とは「外部または内部からの特別な刺激によって引き起こされる脳の状態」であり、**価性**(好き嫌いという方向性がある)、**持続性**(短時間の刺激に対しても持続する)、**汎化性**(さまざまな面に影響する)、**スケール性**(強弱がある)の4つが重要な特徴であると考えられている (Anderson and Adolphs, Cell 2014)。しかし、「感情」に関する遺伝子レベルのメカニズムはほとんど明らかになっていない。

研究代表者木村は、全く知られていなかった線虫 **C. エレガンス**の交流電気刺激への応答性を見出した(図1)。具体的には、寒天培地上の C. エレガンスを 30-75 V の電流で刺激すると、その場から逃げるように急速に移動する(**価性**)、わずか数秒の刺激でも最大数分までこの移動反応が持続する(**持続性**)、通常は強く認識して移動速度が低下する餌を無視する(**汎化性**)、30 V 刺激では刺激中から急速移動するが、75 V 刺激では刺激中はむしろその場に留まって刺激停止直後に急速移動を開始する(**スケール性**)など、「感情」の重要な特徴に共通するような行動が観察された。

特に、これまでに知られている C. エレガンスの刺激応答行動は刺激が消失すると応答行動も消失するにも関わらず、この電気刺激応答行動は、刺激が消失した後も数分間持続するという点で「感情」の本質を反映していると考えられる(「嬉しい」「悲しい」「怖い」などという感情は、きっかけとなる刺激が消えたあとも持続する)。したがって、この電気刺激応答行動を指標にして遺伝学的解析を行えば、「感情」の基本原理に関わるさまざまな遺伝子を同定できる可能性が高いと考えた。

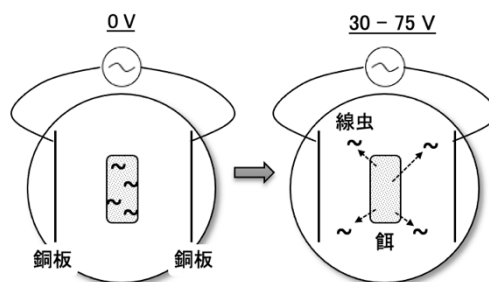


図1. C. エレガンスの電気刺激応答行動。直径 9 cm の寒天培地の中央に餌である大腸菌を小さく撒くと、C. エレガンスはその狭い領域に集まり、滞在する(左)。しかし、培地両側の銅板の間に 30-75 V の電流を流すと、餌場から逃げ出すように急速に移動する(右)。

2. 研究の目的

本研究では、(1) モデル動物・線虫 C. エレガンスの電気刺激に対する忌避応答行動を遺伝学的手法で解析することにより、「感情」に関わると考えられる遺伝子群を同定すること、(2) さらに先端的な高速三次元イメージング技術を用いて、C. エレガンスの全脳神経活動が「感情」によってどのように変化するかを明らかにすることを目的とした。本研究の成果が発展することで、基本的な「感情」に関わる遺伝子と脳活動の関連を、全く新たな角度から解明する。

3. 研究の方法

(A) 遺伝学的解析による電気刺激への応答に関わる遺伝子の同定

まず、C. エレガンス研究の長所である遺伝学的解析によって、電気刺激への応答に異常を示す変異株を単離する。具体的には、既存の変異株を用いて逆遺伝学的な解析を行うと共に、順遺伝学的解析を行った。

(B) 全脳活動イメージングによる C. エレガンスの「感情」と神経活動の解明(木村)

「感情」は脳活動のさまざまな面に影響する。脳がわずか 200 個弱の神経細胞によって構成される C. エレガンスを用いれば、「感情」によって脳全体の活動がどのように変化するかを計測することができる。この目的のために、木村らが最近独自に確立した高速三次元顕微鏡を用いた全脳神経細胞活動のカルシウムイメージング(Wen et al., eLife 2021)を行った。

4. 研究成果

(A) 遺伝学的解析による電気刺激への応答に関わる遺伝子の同定

まず逆遺伝学的解析によって、電気刺激受容に関わる遺伝子を調べた。これまでさまざまな化学刺激受容に関与することが明らかになっていた cGMP 依存性陽イオンチャネル (*tax-2*, *tax-4*) と TRP 型陽イオンチャネル (*osm-9*, *ocr-2*)、また接触刺激受容に関わる遺伝子 (*mec-4*, *mec-19*, *trp-4*) のいずれもが関与していないという意外な結果が明らかになった。しかし一方で興味深いことに、サメやエイといった環境中の電気刺激を感知する硬骨魚で電気刺激受容体として機能している L 型膜電位依存性 Ca⁺⁺ チャネル (VGCC) の相同遺伝子が、C. エレガンスにおいても電気刺激受容体として機能している可能性が明らかになった。

つぎに、持続的応答にかかわるであろう神経修飾物質を調べた。これも意外なことに、ドーパミン・セロトニン・オクトパミン(ノルアドレナリンに相当)のいずれも持続的応答に関与していないことが明らかになった。しかし、さまざまな神経ペプチドの成熟に必要であることが知られている前駆タンパク質転換酵素 *egl-3* 遺伝子機能が低下すると、短時間の電気刺激に対する持続的応答がより長くなることが明らかになった。すなわち、電気刺激に対する持続的応答は神経ペプチドの伝達によって積極的に終了させられているという新たな可能性が明らかになった。ここまでの結果は、国際専門誌に投稿し、現在論文改訂中である。

さらに、C. エレガンス研究の長所である順遺伝学的解析を行った。200,000 ハプロイドゲノムに対するスクリーニングを行い、さらに複数回の戻し交配を行って、電気刺激への持続的応答に異常を示す変異株を 5 つ単離した。これらの全ゲノム配列決定も行い、その結果を現在解析中である。(未発表)

(B) 全脳活動イメージングによる C. エレガンスの「感情」と神経活動の解明

第一段階として、これまで直径 10 cm シャーレ中の寒天培地上で行っていた実験を、正立顕微鏡下で行えるようにするためのさまざまな実験条件の最適化を行った。この条件最適化が完了した上で全脳活動イメージングを行った所、持続的応答行動に関与すると考えられる全脳神経活動が計測された。現在、多色蛍光による細胞同定 (Yemini et al., Cell 2021) の結果と対応させながら、実験結果の再現性の確認を行っている。

まとめ:

上記のように、本研究から電気刺激に対する C. エレガンスの持続的応答行動に関与する複数の遺伝子および神経活動を見出すことができた。これらの研究を継続することで、電気刺激・持続的神経活動に重要な役割を果たす細胞レベル・遺伝子レベルの新たなメカニズムを解明できると考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Maekawa Takuya, Higashide Daiki, Hara Takahiro, Matsumura Kentarou, Ide Kaoru, Miyatake Takahisa, Kimura Koutarou D., Takahashi Susumu	4. 巻 12
2. 論文標題 Cross-species behavior analysis with attention-based domain-adversarial deep neural networks	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 5519
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/S41467-021-25636-X	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Wen Chentao, Kimura Koutarou	4. 巻 12
2. 論文標題 Tracking Moving Cells in 3D Time Lapse Images Using 3DeeCellTracker	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BIO-PROTOCOL	6. 最初と最後の頁 e4319
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21769/BioProtoc.4319	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Wen Chentao, 木村幸太郎	4. 巻 39
2. 論文標題 クローズアップ実験法 series 338 三次元自動細胞追跡ツール:3DeeCellTrackerで解析できることと使い方	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 2264-2272
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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Tee LF, Young JJ, Maruyama K, Suzuki R, Kimura K
2. 発表標題 Toward the understanding of molecular mechanism of electrical sensation and response.
3. 学会等名 23rd International C. elegans conference（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tee LF, Young JJ, Maruyama K, Suzuki R, Kimura K
2. 発表標題 Toward the understanding of molecular mechanism of electrical sensation and response using the nematode <i>C. elegans</i>
3. 学会等名 the 44th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

木村研究室HP https://www.kokimura-lab.org
--

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
研究分担者	中川 敦子 (Nakagawa Atsuko) (90188889)	名古屋市立大学・大学院人間文化研究科・教授 (23903)	

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		
米国	Northeastern University		