

平成 28 年 5 月 20 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26840110

研究課題名(和文)コネクトミクスによるショウジョウバエ脳の神経ペプチドサーキットの再構築

研究課題名(英文) Mapping neuropeptide neurons in the brain of *Drosophila*

研究代表者

山方 恒宏 (Yamagata, Nobuhiro)

東北大学・生命科学研究科・助教

研究者番号：50716248

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：神経ペプチドは、学習や摂食制御において重要な役割を果たす。高次脳機能における神経ペプチドの作動原理を理解すべく、ペプチド作動性神経の網羅的な*in silico*脳サーキット構築を、ショウジョウバエにおいて行った。個々の脳をPC上の標準脳座標系にレジストレーションするための高効率カスタマイズソフトウェアを開発し、全ペプチド作動性神経の脳発現パターンを可視化、三次元画像データ化し、標準脳上にマッピングした。これにより、神経ペプチドの分枝が集中するような‘ペプチドホットスポット’の存在と、アラトスタチンAによる報酬系ドーパミン神経の抑制性神経支配を明らかとした。

研究成果の概要(英文)：Neuropeptides play a key role in regulation of variety of animal behaviors including feeding and learning. To understand anatomical logic behind, we reconstructed *in silico* brain-wide neuropeptide map in *Drosophila melanogaster*. To this end, we developed a software pipeline for high-throughput brain registration processing. Combining this with GAL4/UAS gene expression system and confocal microscopy allowed me to visualize and map brain expression of all neuropeptide-specific GAL4s in the standardized brain coordinates, revealing brain neuropeptide ‘hot spots’ as well as inhibitory regulation of rewarding dopamine system by Allatostatin A.

研究分野：神経科学

キーワード：神経ペプチド コネクトミクス

1. 研究開始当初の背景

神経ペプチドが様々な神経活動に影響し、動物の行動制御に関与することは、ヒト、マウス、ショウジョウバエなど、動物種を超えて繰り返し示されてきた。特にニューロペプチド Y やレプチンによる摂食制御の神経基盤については細胞レベルで明らかとなりつつある (Sohn et al., Trends Neurosci. 2013)。その一方で、神経ペプチドは多種存在し、その多岐に渡る機能は未知なものも多い。また神経ペプチド同士、機能ネットワークによって協調的に作用する場合が多い (Taghert and Nitabach, Neuron, 2012)。それゆえ神経ペプチドによる神経制御機構の包括的な理解には、その機能ネットワークの全体像を明らかとすることが肝要である。そのためには個々の神経ペプチドの神経機能・形態を、神経ネットワーク上で統合・比較し、コネクトミクスの観点から研究する必要があるが、このような取り組みはこれまでほとんどなされてこなかった。

2. 研究の目的

脳内での神経ペプチドの分布、ドーパミン系とのシナプス領域について全容解明を目指す。これらを標準脳座標系に“ペプチドデータバンク”として汎用性の高い形で構築する。より具体的には以下の三点を目標とする。

(1) 画像重ね合わせによる in silico での神経投射パターンの比較・解析法の確立

(2) 脳内における神経ペプチド細胞の投射パターンの網羅的マッピング

(3) 神経ペプチド・脳内アミン間のシナプス可視化とその網羅的マッピング

3. 研究の方法

まず、個々の脳をコンピュータ上で重ね合わせ (レジストレーション) するためのカスタマイズソフトウェアを開発する。レジストレーションとそれに必要な画像の前・後処理を一元的に管理するためのパイプラインを作り、解析の高速化、高効率化を図る。続いて共焦点顕微鏡を用い、すべての神経ペプチドに対し、神経形態とドーパミンとのシナプス領域について3次元的にイメージングする。これらの画像データを先述の解析系によって標準脳座標系にマッピングすることで、神経ペプチドの脳内マップを作成する。

4. 研究成果

(1) 個々の脳を PC 上の標準脳座標系にレジストレーションするための高効率カスタマイズソフトウェアを開発した。

(2) GAL4/UAS システムと共焦点レーザー顕微鏡を用い、全ペプチド作動性神経の脳発現パターンを可視化、三次元画像データ化した。これを先のカスタマイズソフトウェアを用い、標準脳上にマッピングした。同様にドーパミン神経と神経ペプチドのシナプスも可視化、マッピングした。これにより、標準脳座標系に汎用性の高いペプチドデータバンクを構築した。

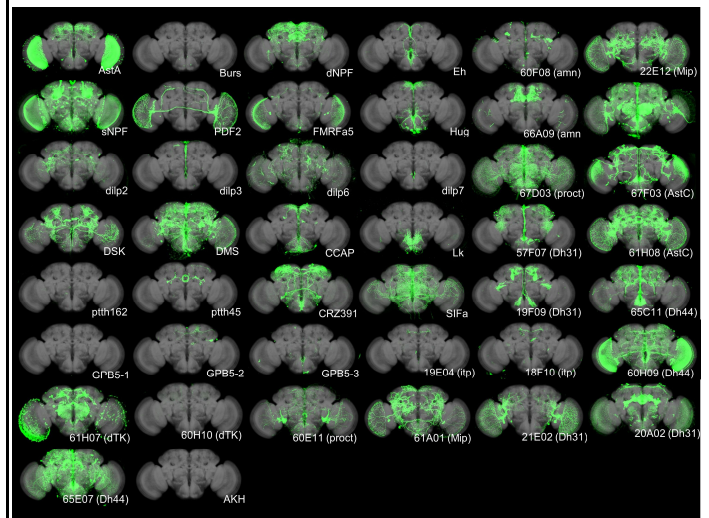


図1 ペプチドデータバンク。神経ペプチド特異的 GAL4 系統の網羅的な脳発現パターンを示している。

(3) データバンクの解析により、神経ペプチドの分枝が集中するような‘ペプチドホットスポット’の存在を明らかとした。これらのホットスポットと特定脳機能との相関解析が待たれる。

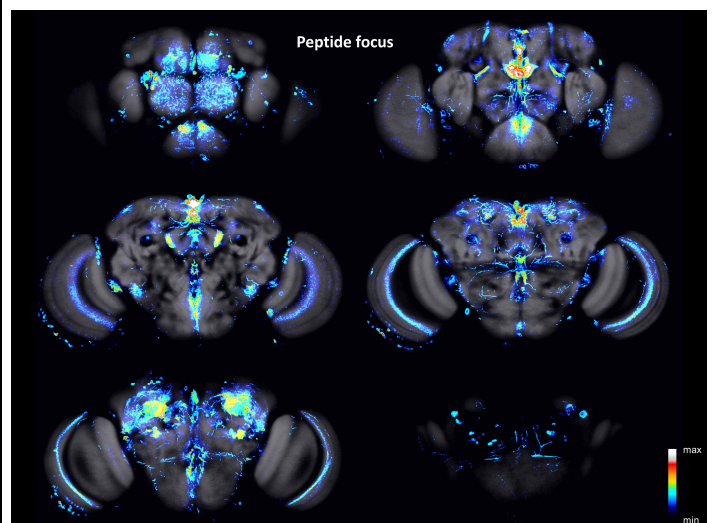


図2 脳内の神経ペプチド‘ホットスポット’

(4) アラトスタチン A による報酬系ドーパミン神経の神経支配を明らかとした。行動学的解析により、アラトスタチン A は罰系ドーパミン神経を抑制することで、報酬伝達していることを明らかとした。

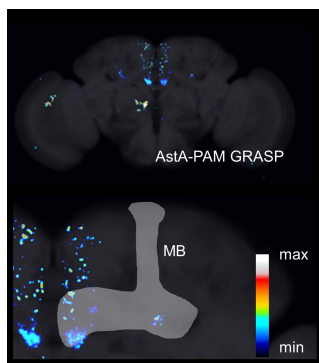


図3 GRASP法 (Feinberg et al., Neuron, 2008)による報酬系ドーパミン神経とアラトスタチン A 細胞のシナプスの可視化。(上)脳全体のGRASPシグナル (下)学習中枢

であるキノコ体近傍の GRASP シグナル
MB:キノコ体

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 すべて査読有)

1. Rohwedder A, Wenz NL, Stehle B, Huser A, Yamagata N, Zlatic M, Truman JW, Tanimoto H, Saumweber T, Gerber B, Thum AS. Four Individually Identified Paired Dopamine Neurons Signal Reward in Larval Drosophila. *Curr Biol*. 2016 Mar 7;26(5):661-9.
2. Ichinose T, Aso Y, Yamagata N, Abe A, Rubin GM, Tanimoto H. Reward signal in a recurrent circuit drives appetitive long-term memory formation. *Elife*. 2015 Nov 17;4:e10719.
3. Yamagata N, Ichinose T, Aso Y, Plaçais PY, Friedrich AB, Sima RJ, Preat T, Rubin GM, Tanimoto H. Distinct dopamine neurons mediate reward signals for short- and long-term memories. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015 Jan 13;112(2):578-83.

4. Aso Y, Sitaraman D, Ichinose T, Kaun KR, Vogt K, Belliart-Guérin G, Plaçais PY, Robie AA, Yamagata N, Schnaitmann C, Rowell WJ, Johnston RM, Ngo TT, Chen N, Korff W, Nitabach MN, Heberlein U, Preat T, Branson KM, Tanimoto H, Rubin GM. Mushroom body output neurons encode valence and guide memory-based action selection in Drosophila. *Elife*. 2014 Dec 23;3:e04580.

5. Galili DS, Dylla KV, Lüdke A, Friedrich AB, Yamagata N, Wong JY, Ho CH, Szyszka P, Tanimoto H. Converging circuits mediate temperature and shock aversive olfactory conditioning in Drosophila. *Curr Biol*. 2014 Aug 4;24(15):1712-22.

[学会発表](計 4 件)

1. Nobuhiro Yamagata, Makoto Hiroi, Shu Kondo, Ayako Abe, Tetsuya Tabata, Hiromu Tanimoto. 2015年10月2日. Neurobiology of Drosophila, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor(USA)
2. 山方恒宏. ドーパミン神経抑制による記憶形成. 2015年9月25日. 日本遺伝学会第87回大会 東北大学(宮城・仙台)
3. 山方恒宏. 短期・長期記憶を誘導する異なるドーパミン細胞群. 2014年9月11日. 日本動物学会第85回大会 東北大学(宮城・仙台)
4. 山方恒宏. 2014年6月6日. Neural circuit for reward learning in the brain of fruit fly, Drosophila melanogaster. The 11th Japanese Drosophila Research Conference 金沢歌劇座(石川・金沢)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山方 恒宏 (YAMAGATA, Nobuhiro)
東北大学・大学院生命科学研究科・助教
研究者番号：50716248

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：