

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔令和2（2020）年度 研究進捗評価用〕

平成29年度採択分
令和2年3月31日現在

行動スイッチを引き起こす分子と神経回路の完全解明

Dissection of molecules and neural circuits
underlying a behavioral switch

課題番号：17H06113

飯野 雄一（IINO, YUICHI）

東京大学・大学院理学系研究科・教授



研究の概要（4行以内）

本研究では、全神経回路の構造が明らかになっている線虫 *C. elegans* を用いて、学習により行動が反転するしくみについて調べた。その結果、ジアシルグリセロール経路やインスリン経路が行動反転を指令する重要な役割を果たすことを見出した。さらに、行動中の線虫の神経活動測定や頭部全神経の活動測定の技術基盤を確立し、行動反転に関わる神経活動を捉えた。

研究分野：システム神経科学

キーワード：線虫 *C. elegans*, 学習記憶, シナプス伝達, 神経回路, 全脳イメージング

1. 研究開始当初の背景

神経回路は生物の作り出した最も高度で精巧な情報処理システムであり、その理解は生命科学の大目標の一つである。しかし、その動作機構、特に回路がどう情報を処理しているかを個々の細胞のレベルで理解する研究は端緒についたばかりである。研究代表者らは多くの動物のうちで唯一全神経回路の構造が既知である線虫 *C. elegans* を用いて、化学走性行動が経験により様々に変化する現象に注目し、これに関わるシグナル伝達経路やシナプス変化、受容体局在変化などの機構を明らかにしてきた。行動出力のパターンも定量解析により明らかにし、化学走性が前進後退運動と進行方向制御という二つの確率的な行動機構で達成され、いずれの行動も学習により反転することを明らかにしていた。

2. 研究の目的

本研究ではこの基盤のもとに、以下について明らかにすることを目指している。

- 1) 細胞内シグナル伝達と転写制御によるシナプス制御機構の解析、記憶分子の特定
- 2) シナプス伝達の反転の機構の解明
- 3) 運動回路の同定と回路ダイナミクスの定量化
- 4) 感覚運動相互作用の神経機構の解明
- 5) 学習による分子の変化とそれによる全神

経ダイナミクスの変化の解明

- 6) 線虫の「気分」による感覚運動行動の変化の機構

3. 研究の方法

本研究では主に、線虫の塩 (NaCl) への化学走性をモデル系として研究を行っている。線虫は過去に経験した塩濃度を記憶し、餌とともに経験した塩濃度には向かい、飢餓とともに経験した塩濃度は避ける学習を行う。すなわち、過去に経験した塩濃度が現在の塩濃度より高いか低いかで行動の方向が反転し、過去の経験の際の餌の存否によっても行動が反転する。2. で記載した課題に対し、突然変異体や遺伝子改変動物を用いた遺伝子機能と遺伝子産物の作用の研究、行動の定量化、固定した線虫における神経活動と分子動態のイメージング、頭部全神経細胞の活動の同時イメージング、動いている線虫の神経活動イメージングなどを組み合わせ、感覚入力から行動出力に至る神経回路の働きと分子機構を明らかにすることを計画した。

4. これまでの成果

・Gq/ホスホリパーゼ C (PLC)/ジアシルグリセロール (DAG)/プロテインキナーゼ C (PKC) 経路の活性により塩に対する走性の方向が決まることが分かっていた。今回、感覚神経における DAG の量を蛍光プローブで定量したと

ころ、塩濃度変化に応じて DAG のレベルが変化することが分かった。このことから、DAG が過去の塩濃度と現在の塩濃度の差をコードし、それにより行動が変化するというモデルを提出した (Ohno et al. 2017)。

・飢餓と同時に経験した塩濃度を忌避するようになる学習 (味覚忌避学習) にインスリン受容体 DAF-2 が必要であること、DAF-2 のアイソフォームである DAF-2c が、塩を受容する ASER 神経の軸索 (シナプス部位) で働くことが研究代表者らの以前の研究で明らかになっている。細胞核で働く転写因子 FOXO である DAF-16 も味覚忌避学習に働く。FOXO は通常インスリン受容体により負に制御されるが、味覚忌避学習には *daf-2* 遺伝子、*daf-16* 遺伝子のいずれもが必要であることが分かった。さらに、DAF-16 はもうひとつのインスリン受容体 DAF-2a で負に制御されていることが明らかになった。つまり、細胞体における DAF-2a と軸索における DAF-2c がいずれも学習に寄与し、両者の協調により塩忌避が起こることを見いだした (Nagashima et al. 2018)。

・味覚忌避学習に必要な感覚神経を探索したところ、これまで注目されていなかった ASG という感覚神経が見つかり、この神経が飢餓後に忌避行動が発現されるために重要であることが分かった。ASG は飢餓経験により活性を上げるとともに、後退運動によって活性化するという意外な発見が得られた。行動を定量化解析したところ、化学走性の機構として新たに「方向性ピルエット」と名付けた進行方向修正機構が働き、ASG はこれを促進することが明らかとなった (Jang et al. 2019)。

・研究代表者 (飯野) と研究分担者 (石原) の共同研究で 4D イメージングの系の整備を進めてきた。カルシウムプローブを全神経に発現させた線虫で、対物ピエゾ素子により焦点面を高速に動かしつつ、2 チャンネル~3 チャンネルの蛍光画像を取得する。3 次元 (3D) の時系列画像が得られるが、線虫は麻酔していないので動きがある。粒子フィルタ法をベースに各神経をトラッキングする手法を共同研究により開発し論文発表した (Hirose et al. 2018)。また、神経細胞の名前をつける作業 (アノテーション) は研究開始時に予想した以上に困難であった。個体により細胞体の位置関係が異なるためである。個体差の定量的な情報を得るため、特定の少数の神経細胞に細胞特異的プロモーターで蛍光タンパク質を発現させた多数の線虫株で 3D 画像を取得し細胞位置の定量データを取得した。このデータを用いて神経の名前付けに適したマーカー蛍光を発現する 4D イメージング用の株を作製するとともに、統計数

理研究所との共同研究により自動アノテーションアルゴリズムを開発し、手動作業と自動機能とを協調させる GUI を作製し発表した (Toyoshima et al. 2020)。

5. 今後の計画

感覚神経から介在神経への神経伝達およびさらに下流の神経回路における伝達が学習によりどう変化するかを全脳イメージングおよび行動中の線虫を用いたトラッキングイメージングにより明らかにする。これによって、記憶が脳のどこに存在するかを明らかにするとともに、それに関わる伝達物質、受容体、その他の制御タンパク質の動態を明らかにすることにより、行動スイッチング機構の全貌を解明する。

6. これまでの発表論文

(前項に記載の論文のみ掲載する)

Toyoshima, Y., Wu, S., Kanamori, M., Sato, H., Jang, M.S., Oe, S., Murakami, Y., Teramoto, T., Park, C., Iwasaki, Y., Ishihara, T., *Yoshida, R., *Iino, Y. (2020). Neuron ID dataset facilitates neuronal annotation for whole-brain activity imaging of *C. elegans*. BMC Biology *in press*.

Jang, M.S., Toyoshima, Y., Tomioka, M., *Kunitomo, H., and *Iino, Y. (2019). Multiple sensory neurons mediate starvation-dependent aversive navigation in *Caenorhabditis elegans*. Proc Natl Acad Sci U S A 116, 18673-18683.

Nagashima, T., Iino, Y., and *Tomioka, M. (2019). DAF-16/FOXO promotes taste avoidance learning independently of axonal insulin-like signaling. PLoS Genet 15, e1008297.

Hirose, O., Kawaguchi, S., Tokunaga, T., Toyoshima, Y., Teramoto, T., Kuge, S., Ishihara, T., Iino, Y., and *Yoshida, R. (2018). SPF-CellTracker: Tracking Multiple Cells with Strongly-Correlated Moves Using a Spatial Particle Filter. IEEE/ACM Trans Comput Biol Bioinform 15, 1822-1831.

Ohno, H., Sakai, N., Adachi, T., and *Iino, Y. (2017). Dynamics of Presynaptic Diacylglycerol in a Sensory Neuron Encode Differences between Past and Current Stimulus Intensity. Cell Rep 20, 2294-2303.

7. ホームページ

<http://molecular-ethology.bs.s.u-tokyo.ac.jp/labHP/J/JTop.html>