

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24年 5月 3日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21700344

研究課題名（和文） 局所神経回路形成による運動機能獲得過程の解明

研究課題名（英文） Development of motor functions by formation of local neural circuits

研究代表者

高坂 洋史 (KOHSAKA HIROSHI)

東京大学・大学院理学系研究科・助教

研究者番号：20431900

研究成果の概要（和文）：運動、感覚、記憶などの動物の機能は、神経細胞のネットワークによって作り出されます。個々の神経細胞の働き方については詳しい研究が進められてきましたが、複数の神経細胞がネットワークになってどのように機能を生み出すのかということに関しては、まだ不明な点が多くあります。本研究では、ショウジョウバエ幼虫の運動回路を用いて、運動パターンを生み出す神経回路の解析を行ないました。その結果、適切な運動速度を生み出すために必要な神経細胞を見つけることができました（PMSI と命名）。この神経細胞の詳細な機能解析により、運動回路が運動速度を調節するしくみの一端を明らかにしました。

研究成果の概要（英文）：Network of neurons generates variety of animal's activities such as moving, sensing and memorizing. While the properties of each neuron have been deeply examined, how assembly of neurons creates coherent and coordinated functions remains to be clarified. In this study, we dissected Drosophila larval motor circuits that generate spatiotemporal patterns of locomotion. We succeeded in identification of a group of interneurons (we named them "PMSI") which control the speed of the larval locomotion. By detailed analysis of PMSI using Ca imaging and optogenetics, we revealed some of the mechanisms how motor circuits regulate speed of locomotion.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2009年度 | 1,400,000 | 420,000 | 1,820,000 |
| 2010年度 | 900,000 | 270,000 | 1,170,000 |
| 2011年度 | 900,000 | 270,000 | 1,170,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,200,000 | 960,000 | 4,160,000 |

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学・神経科学一般

キーワード：発生・発達・再生神経科学、神経回路

1. 研究開始当初の背景

動物の動きは、神経回路によってどのように生み出されるのか？そもそも神経回路はどのような神経細胞によって構成されているのか？これらの問いに対する答えは、まだほとんど明らかになっていない。

2. 研究の目的

遺伝学的手法の発達したショウジョウバエを用いて、運動パターン生成に関与する介在神経細胞の同定・機能解析を行なうことで、神経回路の時空間的活動パターンが生み出されているしくみを明らかにする。

3. 研究の方法

本研究では、ショウジョウバエ幼虫のぜん動運動をモデル系として、運動回路の解析を行なった。ぜん動運動は、幼虫体壁の尾端体節から頭端体節にかけて順次局所的筋収縮が伝播する定型運動である。

(1) 介在神経細胞の探索

運動パターン生成に関与する介在神経細胞は、運動パターンと関連した神経活動パターンを示すと考えられる。そこで、ショウジョウバエ幼虫神経節内の様々な神経細胞群の活動を、神経活動に応じて蛍光強度が変化するタンパク質を用いて測定した。各神経細胞群から発する蛍光強度の時間変化を解析することで、運動制御に関わると考えられる介在神経細胞を同定した。

(2) 介在神経細胞の運動機能への関与の解析

上記の探索で同定した神経細胞（以下 PMSI）について、形態・機能を詳細に解析した。膜局在型 GFP やシナプス部に局在する蛍光タンパク質を発現させることで、PMSI の回路内での構造を調べた。また、温度感受性、もしくは光感受性膜タンパク質を用いて、PMSI の神経活動を一過的に制御し、運動にどのような効果が表れるかを調べた。

4. 研究成果

(1) PMSI の形態

前項(1)で記載した探索により、PMSI を同定した。ショウジョウバエ幼虫のぜん動運動は尾端から頭端にかけて伝播する筋収縮の波である。このパターンは、運動神経細胞が尾端の体節が頭端の体節にかけて順次活動することによって生み出される。本研究で同定した PMSI は、運動神経細胞と同様に神経節の各体節に存在し尾端から頭端にかけて活動が伝播する。このことから、PMSI が運動制御に関わることが示唆された。

PMSI の形態を膜局在型 GFP やシナプスマーカーを用いて解析したところ、PMSI の出力先と考えられるブトンと呼ばれる構造体の位置が、運動神経細胞の入力部位の近傍であった。このことから、PMSI が運動神経細胞を直接神経支配している介在神経細胞だと考えられた。そこで、蛍光タンパク質再構成法 (GRASP 法) を用いて、PMSI と運動神経細胞がシナプスを形成するくらい近接しているかどうか調べたところ陽性であったことから、PMSI は運動神経細胞を直接支配する介在神経細胞であると考えられる。

(2) PMSI の機能

PMSI の神経活動を人工的に制御して運動に与える影響を調べることで、PMSI の運動回路における機能を調べた。PMSI に光感受性陽イオンチャンネルを発現させ、光照射によって神経活動を興奮させたところ、筋細胞の弛緩が観察された。このことから、PMSI は運動神経細胞に対して抑制的に作用していることが示唆される。また、温度感受性ダイナミン変異体や、光感受性塩化物イオンポンプを用いて、PMSI の活動を阻害したところ、ぜん動運動の筋収縮が伝播する速さが遅くなった。このことは、PMSI の適切な活動が、運動速度の調整に重要であることを示す。

(3) 運動速度の制御機構

運動神経細胞を抑制的に制御している PMSI がどのようにして速度の調節を行なっているかを明らかにするために、PMSI の神経活動を光によって制御すると同時に電気生理学的に運動神経の活動測定を行なう系を開発した。PMSI の活動を光感受性塩化物イオンポンプを用いて一過的に阻害しながら、運動神経の活動を測定した。その結果、PMSI の活動が阻害されると、運動神経の活動時間が長くなることを見いだされた。このことから、PMSI は運動神経細胞の活動を短くすることによって、各体節を伝播していくぜん動運動の速さを制御していることが示唆された。

(4) 成果の位置づけと今後の展望

神経回路がどのような神経細胞によって構成されているのかは、神経科学の中で重要な問題の1つである。これまでに、運動制御に関わる介在神経細胞の探索は進められてきたが、遺伝学的手法によって同定される介在神経細胞はごくわずかしかない。本研究では、PMSI の遺伝学的同定に成功し、運動制御に関わる回路機構の解明に寄与することができた。特にこの細胞群と遺伝子発現や神経機能、形態に関して類似の神経細胞が哺乳類にも存在する。ショウジョウバエで高度に発達した遺伝学的手法を PMSI に適用し、機能解析や遺伝子探索を進めることで、今後運動回路に関して種間で共有された制御機構の解明が進むと期待できる。

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 2 件)

①Inada, K., Kohsaka, H., Takasu, E., and Nose, A. PLoS One 6(12):e29019 (2011)

Optical dissection of neural circuits responsible for Drosophila larval locomotion with halorhodopsin.

doi:10.1371/journal.pone.0029019

査読あり

② Kohsaka, H., Okusawa, S., Itakura, Y., Fushiki, A. and Nose, A. Development, Growth and Differentiation. 54:408-419 (2012)

Development of larval motor circuits in Drosophila.

doi: 10.1111/j.1440-169X.2012.01347.x

査読あり

[学会発表] (計 25 件)

① Kohsaka, H., and Nose, A.

Optogenetic dissection of central circuits underlying larval locomotion in Drosophila

第 34 回日本分子生物学会年会

2011 年 12 月 13-16 日、横浜

② 澤井貴史、高坂洋史、能瀬聡直

ショウジョウバエ幼虫の運動開始に関与する介在神経細胞の探索

第 34 回日本分子生物学会年会

2011 年 12 月 13-16 日、横浜

③ 高坂洋史、能瀬聡直

時空間パターンを生み出すメゾ回路の作動原理の解明

新学術領域研究「メゾスコピック神経回路から探る脳の情報処理基盤」第 2 回領域会議

2011 年 10 月 26 日、熱海

④ 高坂洋史、能瀬聡直

神経活動の可視化と光操作による運動制御回路の解析.

第 3 回光塾、

2011 年 10 月 22,23 日、東京

⑤ Kohsaka, H. and Nose, A.

Regulation of Drosophila larval locomotion by propagating activity of local interneurons.

Cold Spring Harbor Meeting on “Neurobiology of Drosophila”

3-7 October 2011, Cold Spring Harbor, U.S.A.

⑥ Fushiki, A., Kohsaka, H. and Nose, A.

Role of sensory experience in functional development of Drosophila motor circuits.

2011 Cold Spring Harbor Asia Conference “Assembly, plasticity, dysfunction and repair of neural circuits”

26-30, September, 2011. Dushu lake, China.

⑦ Kohsaka, H., Takasu, E. and Nose, A.

Functional and anatomical analysis of segmentally-arrayed interneurons that regulate larval locomotion in Drosophila.

第 84 回日本生化学会大会、

2011 年 9 月 21-24 日京都

⑧ Kohsaka, H., Takasu, E. and Nose, A.

Segmentally-arrayed interneurons regulate the peristaltic locomotion of Drosophila larvae.

第 34 回日本神経科学大会、

2011 年 9 月 14-17 日、横浜

⑨ Okusawa, S., Kohsaka, H. and Nose, A.

Formation and plastic change of the terminals of sensory feedback neurons involved in Drosophila larval locomotion.

第 34 回日本神経科学大会、

2011 年 9 月 14-17 日、横浜

⑩ Itakura, Y., Kohsaka, H. and Nose, A.

Search for interneurons that regulate larval locomotion in Drosophila.

第 34 回日本神経科学大会、

2011 年 9 月 14-17 日、横浜

⑪ Fushiki, A., Kohsaka, H. and Nose, A.

Role of sensory experience in functional development of *Drosophila* motor circuits.

第 34 回日本神経科学大会、
2011 年 9 月 14-17 日、横浜

⑫ Kohsaka, H., Nii, R., Nakagawa, Y. and Nose, A.

Imaging and manipulating neural activities within the motor circuit of the *Drosophila* larvae.

1st Korea University-Tokyo University Joint Workshop.

21-23 February 2011, Tokyo.

⑬ Kohsaka, H., Nii, R., Nakagawa, Y., Inada, K. and Nose, A.

Imaging activity propagation in the *Drosophila* motor circuits that regulate larval peristalsis.

Neuro2010 神経科学学会シンポジウム、
2010 年 9 月 2-4 日、神戸

⑭ Inada, K., Kohsaka, H., Takasu, E. and Nose, A.

Temporal perturbation of neural activity in *Drosophila* larvae undergoing locomotion.

第 33 回日本神経科学大会、
2010 年 9 月 2-4 日、神戸

⑯ Nakagawa, Y., Kohsaka, H. and Nose, A.

Functional localization of neuronal components controlling larval peristaltic movements in *Drosophila*.

第 33 回日本神経科学大会、
2010 年 9 月 2-4 日、神戸

⑰ 高坂洋史

神経回路の時空間活動パターンのモデル化
脳科学若手の会ワークショップ、

2010 年 4 月 3,4 日、埼玉

⑱ Inada, K., Kohsaka, H., Takasu, E. and Nose, A.

Optical control of *Drosophila* larval locomotion with halorhodopsin.

System neurobiology spring school、
2010 年 3 月 7-9 日、京都

⑲ 中川義章、仁井理恵、高坂洋史、能瀬聡直
ショウジョウバエ幼虫の中枢神経系におけるカルシウムイメージング : Imaging of activity propagation in the nerve cord of *Drosophila* larvae.

第 32 回日本分子生物学会年会、
2009 年 12 月 9-12 日、横浜

⑳ Kohsaka, H., Nii, R. and Nose, A.

Imaging of activity propagation in the nerve cord of *Drosophila* larvae.

第 32 回日本神経科学大会、
2009 年 9 月 16-18 日、名古屋

21) Nose, A., Kohsaka, H., Tachi, Y., Okusawa, S.

Formation and plasticity of motor circuit in *Drosophila*.

第 32 回日本神経科学大会シンポジウム、
2009 年 9 月 16-18 日、名古屋

22) 高坂洋史

ショウジョウバエ幼虫の運動回路の形成と可塑性

第 17 回東北脳科学グローバル COE 若手フォーラム、
2009 年 8 月 28 日、仙台

23.) Okusawa, S., Kohsaka, H., Tachi, Y. and Nose, A.

Formation and plasticity of motor circuits in

Drosophila.

特定領域研究「統合脳」神経回路・分子脳科学領域合同夏班会議、

2009年8月9-12日、札幌

24.) Okusawa,S., Kohsaka,H., Tachi.Y. and Nose, A.

Formation and plasticity of motor circuits in Drosophila.

Japan Drosophila Research Conference 9(JDRC9)、

2009年7月6-8日、静岡

25) Kohsaka, H., Tachi, Y. and Nose, A.

Formation and plasticity of neural circuits regulating peristaltic movements of Drosophila larvae.

"Constructing Neural Circuits" meeting at Janelia Farm.

3-6 May 2009, U.S.A.

[その他]

ホームページ等

①日本経済新聞 (2011年3月20日)

ミクロで観る生命、4. 成長するハエの卵、神経回路ができる瞬間

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高坂 洋史 (KOHSAKA HIROSHI)

東京大学大学院・理学系研究科物理学専攻・助教 → 東京大学大学院・新領域創成科学研究科・助教

研究者番号：20431900

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし