

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07487

研究課題名(和文) 脳が季節を知る仕組み

研究課題名(英文) The mechanism underlying detection of seasons by the brain

研究代表者

濱中 良隆 (Hamanaka, Yoshitaka)

大阪大学・理学研究科・助教

研究者番号：10647572

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：ヨーロッパモノアラガイは、産卵行動に明瞭な光周性を示す(産卵は長日で促進され、短日で抑制される)。本種の産卵は、脳神経節にあるCDCニューロンから分泌される産卵誘導ホルモン(CDCH)によって調節されている。電気生理学的解析から、長日経験個体のCDCニューロンは、短日経験個体のCDCニューロンと比較して、興奮性が高いことがわかった。本種は、光周期依存的にCDCニューロンの興奮性を切り替えることで、季節に適応した繁殖を行っていると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

光周期(季節)の情報は脳にある光周時計で処理されるが、無脊椎動物の光周時計の正体やその機能原理は未だ不明である。本研究により、ヨーロッパモノアラガイの産卵調節に関わるCDCニューロンが光周時計の制御下にあることが明らかとなった。今後、CDCニューロンに入力する前ニューロンを探索することで光周時計の神経機構の一端が明らかになると考えられる。季節という長い時間軸を持った情報が脳内でどのように処理されるのか？本研究は、地球環境への生物の適応機構を実験生物学的に明らかにしようとする試みであり、若者の生物学への憧れを誘起するという社会的意義もある。

研究成果の概要(英文)：The pond snail, *Lymnaea stagnalis* shows clear photoperiodism in egg-laying behavior; egg laying is promoted in the long-day conditions while it is severely inhibited in the short-day conditions. The egg-laying behavior is controlled by the secretion of egg-laying hormone (caudo-dorsal cell hormone, CDCH) that is produced by CDC neurons in the cerebral ganglia. According to electrophysiological analyses, I found that the excitability of CDC is higher in the long-day conditions than in the short-day conditions. Thus, the snail seems to perform seasonal reproduction via photoperiod-dependent switching of CDC's excitability.

研究分野：神経生物学

キーワード：光周性 軟体動物 Caudo-dorsal cell Canopy cell 細胞内電位記録 免疫組織化学

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

一日の中の明るい時間と暗い時間の比(光周期)に対する生物の反応は光周性と呼ばれ、光周性は生物の季節適応において非常に重要な役割を果たす。温帯に生息する動物の多くは、暖かく食物が豊富な春先～夏には成長や生殖を行う。一方、寒くて食物が乏しい晩秋～冬には、成長や生殖を抑制する(休眠に入る)。光周性の仕組みは、3つのシステム【光受容器(入力系)、光周時計(中枢系)、内分泌系(出力系)】に分けられるが、光受容器や内分泌系に比べ、光周時計の神経機構の理解は遅れている。光周時計は2つの仕組み【(A)光周期を測定する測時機構、(B)光周期の回数を数え、その情報を蓄積する計数機構】で構成される。

古くから、測時機構には約24時間のリズムを駆動する概日時計が関わると考えられており、事実、一部の昆虫種では、概日時計遺伝子の発現を抑制したり、概日時計(ニューロン)を破壊すると光周期を読み取れなくなる。この様に、『光周性に概日時計が関わる』とする過去のモデル実験の結果を裏づける物的証拠が、近年得られている。しかし、概日時計(測時機構)だけでは光周時計の仕組みは説明できない。光周時計のもう1つのピースである計数機構の本体は何なのだろうか? 測時機構と計数機構、光周時計が構築する神経回路を理解するには、光受容器あるいは内分泌系から光周時計に向けて、1つ1つ丹念にニューロンを辿っていく必要があると考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は『ヨーロッパモノアラガイの光周性の神経基盤の一端』を解明することにある。動物の光周性研究には90年以上の歴史があるが、無脊椎動物の光周性の神経基盤には未だ不明な点が多い。モノアラガイの脳は昆虫よりもシンプルで、光周時計の神経回路を、より少数の神経細胞から成る局所回路に還元して理解することが出来る。本種は産卵行動に明瞭な光周性を示し、産卵は脳神経節の caudo dorsal cell (CDC) によって誘導される。光周期の変化に伴ったニューロンの活動変化を指標に、CDC 及び CDC の上流にあるニューロンの形態と電気生理学的特性を解析することで、光周時計の局所回路と神経細胞が光周期をコードするアルゴリズムの一端を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

長日あるいは短日条件で飼育したモノアラガイの caudo dorsal cell (CDC) の活動を細胞内電位記録法によって測定し、光周期の変化に伴った CDC の活動変化を単一細胞レベルの電気生理学で解析した。さらに、免疫組織化学と細胞内色素注入法を組み合わせることで、CDC と神経接続する可能性のあるニューロンの探索を行った。

4. 研究成果

ヨーロッパモノアラガイは、産卵行動に明瞭な光周性を示す(産卵は長日で促進され、短日で抑制される)。本種では、産卵を誘導するホルモン caudo-dorsal cell hormone (CDCH) が同定されており、CDCH は脳神経節にある神経分泌細胞 CDC から分泌される。1年目は、ガラス管微小電極を用いた単一 CDC からの細胞内電位記録法と細胞内染色法を確立した。2年目は、CDC の電気生理学的特性を長日と短日条件間で比較することで、CDCH の分泌を制御する生理機構を解析した。CDC は記録を行った時間帯には自発発火を示さず、電流注入に応じて活動電位を発生させ

た。そこで、1) 静止膜電位、2) 閾値電流（活動電位を発生させるのに必要な最小の電流量）、3) 閾値電位（活動電位を発生し始めた際の膜電位から静止膜電位を引いた値）に着目し、これらを長日と短日条件間で比較した。その結果、長日では、CDC の静止膜電位は浅く、閾値電流が小さいこと、さらに閾値電位も小さいことがわかった。これは、CDC の興奮性が短日より長日が高いことを示す。3年目は、CDC に光周期情報を送る前ニューロンを解析した。本種の産卵行動は、CDC に加えて、lateral lobe と呼ばれる脳領域によっても制御される。Lateral lobe には、光周期依存的に分泌活性を切り替える Canopy cell があり、私は CDC の前ニューロンとして Canopy cell に着目した。両者の神経結合を免疫組織化学と細胞内染色法で調べた結果、直接的な結合関係は無いことがわかった。

本研究から、CDC は光周期に応じて興奮性を切り換え、長日で CDCH の放出（つまり、産卵）を促進していることがわかった。今後は、引き続き CDC 前ニューロンの解析を進め、本種の光周性の神経基盤の解明を目指す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 濱中良隆, 志賀向子
2. 発表標題 Photoperiod controls electrophysiological properties of the caudo-dorsal cells in the pond snail, <i>Lymnaea stagnalis</i>
3. 学会等名 国際比較生理生化学会（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福本その子、濱中良隆、志賀向子
2. 発表標題 ヨーロッパモノアラガイ <i>Lymnaea stagnalis</i> の光周期依存的な産卵におけるカノピー細胞の役割
3. 学会等名 公益社団法人日本動物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 濱中良隆, 志賀向子
2. 発表標題 Photoperiodic control of electrophysiological properties of the caudo-dorsal cells in the pond snail, <i>Lymnaea stagnalis</i>
3. 学会等名 日本比較生理生化学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 神谷 拓志, 濱中 良隆, 志賀 向子
2. 発表標題 ヨーロッパモノアラガイ <i>Lymnaea stagnalis</i> の光周性に対する両眼除去の影響
3. 学会等名 日本動物学会 近畿支部大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
--	---------------------------	-----------------------	----