

光のリアルタイム時空間操作による行動制御機構の解明

Dissecting the mechanism underlying behavioral regulation
through real-time spatiotemporal manipulation of neural circuits

課題番号：19H05644

森 郁恵（Mori, Ikue）

名古屋大学・大学院理学研究科・教授



研究の概要（4行以内）

動物の行動は、外部刺激に対してただひとつに決まるものではありません。たとえ同一の刺激を受けても、試行ごとに異なる応答が出力される現象がしばしば見られます。神経系におけるこのような「ばらついた情報処理」のメカニズムを解明するため、私たちは時空間的な光制御によって神経系を操作できるシステムを開発し神経系で行われる計算のロジックに迫ります。

研究分野：神経科学

キーワード：線虫 *C. elegans*、神経回路、行動制御、イメージング、光遺伝学

1. 研究開始当初の背景

動物の脳は、しばしばコンピュータと比較されますが、脳で行われる計算はコンピュータの計算と比べてはるかに柔軟であると考えられています。興味深いことに、脳で行われる計算は完全な再現性を持たず、同一の外部刺激を動物に与えた場合でも、個体や試行ごとに異なる応答が見られることがあります。このように、動物の脳には、環境刺激に対する応答を「ばらつかせる」機構が備わっており、これは動物が不確実に変動している環境で生存していく上で重要な役割を果たしていると考えられます。しかしながらそのメカニズムは依然として明らかにされていません。

我々は、光によって神経系の活動を操作するオプトジェネティクスを用いて、線虫 *C. elegans* の温度感覚ニューロン AFD を興奮させると、ばらつきのある多様な行動が出力される現象を発見しました。神経回路と行動を詳細に解析したところ、この温度感覚ニューロン AFD は異なる神経ネットワーク（機能的ネットワーク）を介して、複数の異なる行動出力に関与していることがわかりました。さらにそのネットワーク内には、刺激がない状況でも自発的に活動するニューロンが含まれていることがわかりました。これらの結果から我々は、「感覚ニューロンの活動が、神経系の自発活動からなる動的な内部状態に依存して処理され、複数の行動出力に変換されている」という仮説を提示しています。

2. 研究の目的

本研究では、動的な内部状態と感覚刺激の相互作用によって「行動のばらつき」が制御されているという仮説のもと、ニューロン1個の特性から、それらが形成する神経回路網でおこるダイナミックな神経活動や行動出力に至るまで、階層をまたいでシステム全体を包括的に理解することを目的としています。

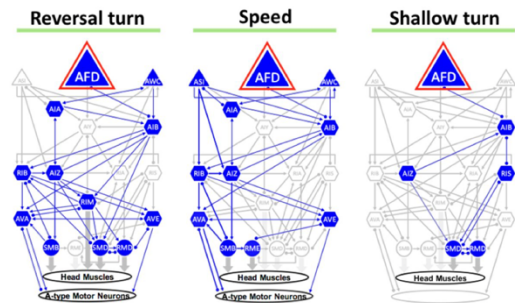
3. 研究の方法

線虫 *C. elegans* の神経系はわずか302個のニューロンから構成されており、各ニューロンには固有の識別名がつけられ、その構成には個体差がありません。さらに各ニューロンがシナプスを介してどのニューロンと連絡しているかを示す神経系の配線図も完全に知られています。こうした解剖学的知見が豊富な線虫を用いることで、神経活動の計測と操作を単一ニューロンレベルで行うことが可能になります。本研究では、寒天培地上を自由に行動する線虫を顕微鏡下で追尾しながら、カルシウムイメージングによる神経活動の計測とオプトジェネティクスによる神経活動の操作を同時に行い、行動制御に関与するニューロンとそのダイナミクスを明らかにします。また、神経系の活動状態に応じて特定のニューロンの光操作を行う「リアルタイム光操作技術」の開発を目指し、単一の感覚ニューロンの活動が、他のニューロン群の動的な状態に依存して複数の行動出力に変換されるロジックを明らかにします。

4. これまでの成果

4.1 複数の行動を制御する神経回路の同定

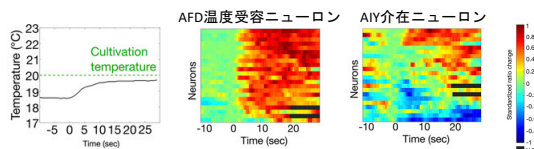
線虫は、前進、後退、方向転換などの決まった複数のパターン（行動要素）を組み合わせることによって一連の行動を制御しています。これらの行動要素がどのような神経回路で制御されているかを明らかにするため、個々のニューロンを遺伝学的に脱落させた系統を網羅的に作出し、それらの行動を解析することで、各行動要素を制御する「機能的ネットワーク」を同定することに成功しました (Ikeda et al., PNAS, 2020; 下図参照)。



機能的ネットワークの同定
Reversal turn (左)、Speed (中)、Shallow turn (右)の行動出力を担う機能的ネットワーク。

4.2 介在/運動ニューロンの確率的応答の発見

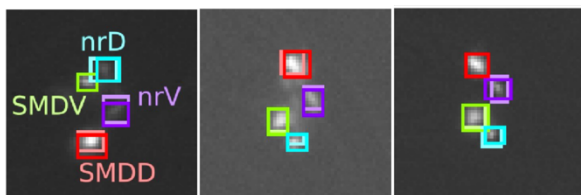
機能的ネットワークを構成しているニューロンの応答特性をカルシウムイメージングによって調べたところ、温度変化刺激が同一であるにもかかわらず、AFDがシナプスを介して直接情報を連絡している介在ニューロン AIY が確率的に応答し、興奮や抑制などの多様なパターンを示すことを見出しました (Nakano et al., PNAS 2020; 下図参照)。また、介在ニューロン RIA と運動ニューロン SMD が、温度変化のない状況下でも自発的な活動を示すことがわかりました (未発表)。



機能的ネットワークを構成するAIY介在ニューロンは確率的な応答を示す

4.3 運動ニューロンの自動検出器の開発

機能的ネットワークにおいて自発的な活動を示す運動ニューロン SMD を対象に、機械学習による物体検出法 YOLOv3 を用いて蛍光画像から SMD ニューロンの4つの細胞区画 (SMDD, SMDV, nrD, nrV) を自動認識する検出器を開発しました (下図参照、未発表)。



うすい色のボックス：人の手による4つの細胞区画の検出
濃い色のボックス：深層学習を用いて開発した検出器による検出

5. 今後の計画

ニューロン自動検出器の性能を向上させ、自由に行動する線虫を顕微鏡下で追跡しながら、光操作によるニューロンの活性化によって引き起こされる線虫行動と神経回路のカルシウム応答の同時計測を行うことにより、行動出力に関わる神経活動ダイナミクスを明らかにします。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

- [1] Huang, TT., Matsuyama, HJ., Tsukada, Y., Singhvi, A., Syu, RT., Lu, Y., Shaham, S., Mori, I., Pan, CL. "Age-dependent changes in response property and morphology of a thermosensory neuron and thermotaxis behavior in *Caenorhabditis elegans*" **Ageing Cell** 19(5):e13146 (2020) doi: 10.1111/accel.13146
- [2] Matsuyama, HJ. and Mori, I. "Neural coding of thermal preferences in the nematod *Caenorhabditis elegans*" **eNeuro** 7(3):ENEURO.0414-19.2020 (2020) doi: 10.1523/ENEURO.0414-19.2020
- [3] Ikeda, M., Nakano, S., Giles, AC., Xu, L., Costa, WS., Gottschalk, A., Mori, I. "Context-dependent operation of neural circuits underlies a navigation behavior in *Caenorhabditis elegans*" **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 117(11):6178-88 (2020) doi: 10.1073/pnas.1918528117
- [4] Nakano, S., Ikeda, M., Tsukada, Y., Fei, X., Suzuki, T., Niino, Y., Ahluwalia, R., Sano, A., Kondo, R., Ihara, K., Miyawaki, M., Hashimoto, K., Higashiyama, T., and Mori, I. "Presynaptic MAST kinase controls opposing postsynaptic responses to convey stimulus valence in *Caenorhabditis elegans*" **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 117(3):1638-47 (2020) doi: 10.1073/pnas.1909240117
- [5] Tsukamoto S., Emmei T., Nakano S., Nishio N., Sasakura H., Mori I. "The *Caenorhabditis elegans* INX-4/Innexin is required for the fine-tuning of temperature orientation in thermotaxis behavior" **Genes Cells.** 2020 25(3):154-64 (2020) doi: 10.1111/gtc.12745

7. ホームページ等

- [1] 研究室
<https://elegans.bio.nagoya-u.ac.jp/~lab/>
- [2] 名古屋大学・大学院理学研究科附属
ニューロサイエンス研究センター
<https://nsi.bio.nagoya-u.ac.jp/jp/>