

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：12612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06908

研究課題名(和文) スムーズな筋収縮パターンを生み出す運動制御神経回路機構の解明

研究課題名(英文) Study of neural circuits generating smooth muscle contraction patterns

研究代表者

高坂 洋史 (Kohsaka, Hiroshi)

電気通信大学・大学院情報理工学研究科・准教授

研究者番号：20431900

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：多くの動物の身体は、体節と呼ばれる単位が頭部から尾部にかけて一列につながった形をしています。このような体節構造をもつ動物がスムーズに身体を動かすためには、個々の体節を動かすタイミングをうまく調整することが必要です。この研究では、ショウジョウバエ幼虫を使って、体節構造を持つ動物が動くしくみを調べました。その結果、ぜん動運動と呼ばれる運動の間に身体全体が一定時間縮むことで、運動するタイミングが制御されていて、運動速度が調節されていることが明らかになりました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

動物の動く速さは、その動物が生きていく上で重要な性能ですが、それを制御する神経回路のしくみはまだ完全には明らかになっていません。この研究では、運動していないときの時間幅が神経回路によって調整されているという新しい発見ができました。これは、進化の過程で動物がどのように巧妙な運動性能を獲得していったのかについての理解につながることに加えて、動物の動きを模した高性能なソフトロボットの開発にも貢献できると期待できます。

研究成果の概要(英文)：The bodies of many animals are shaped in a series of connected units called segments, extending from the head to the tail. In order for segmented animals to move their bodies smoothly, it is necessary to coordinate the timing of the contraction of individual segments. By using *Drosophila* larvae as a model animal, this study investigated the neuromechanical mechanisms of movement in segmented animals. The results show that the timing of movement is controlled by a gap period between consecutive locomotion cycles. This phenomenon helps regulate the movement timing and adjust the speed of locomotion.

研究分野：神経科学

キーワード：運動制御 神経回路 ショウジョウバエ カルシウムイメージング コネクトミクス オプトジェネティクス

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

動物の躍動的でスムーズな運動は、体全体に配置された筋細胞が適切な時空間パターンで収縮することで実現する。様々な運動パターンのうち、体軸に沿って、局所的な活動が一方にスムーズに伝播する軸性運動は、多様な動物種で広く見られる運動パターンである。軸性運動は、ヒル、センチュウ、ミミズ、昆虫の幼虫などが示す歩行や、魚類・両生類の歩行・遊泳にも見られる。さらに脊椎動物の歩行時にも、脊髄の中を同様の軸性の活動伝播が生じることが知られており、動物の運動パターンの基礎を担っていると考えられる。

軸性運動を実現するためには、体節内制御と体節間制御が共に必須である。体節内制御は、筋シナジーと呼ばれ、体節内の拮抗筋の収縮タイミングを調節する。例えば、魚の遊泳の場合、体軸を屈曲させるために、体節の右側を収縮したときは左側を弛緩させ、逆に左側を収縮したときは右側を弛緩させる。一方、体節間制御においては、体軸方向に隣接する体節の収縮タイミングが調節される。魚の遊泳の例の場合、頭部体節から尾部体節へ順に収縮が伝播していくように、体節間で収縮する時間的遅延が制御される。

多くの動物において、単離した中枢神経系の中で軸性運動に相当する軸性の活動伝播が見られることから、軸性運動は、中枢パターン生成器 (CPG) と呼ばれる中枢神経系内の神経回路によって制御されていると考えられている。そして、筋収縮の体節内制御と体節間制御に対応して、CPG は体節内制御と体節間制御を共に担っていると考えられている。近年の遺伝学的手法の発達により、CPG を構成する神経細胞やその回路構造が徐々に明らかになってきた。本研究の代表者は、ショウジョウバエ幼虫のぜん動運動をモデルとして、軸性運動を担う介在神経細胞を明らかにしてきた。神経接続を包括的に解析するコネクティクス解析により、運動神経細胞から神経回路をさかのぼって介在神経細胞を解析し、運動神経細胞から2つのシナプスをさかのぼった2次の前運動神経細胞として、Ifb-Fwd と Ifb-Bwd という介在神経細胞を同定した (Kohsaka et al., 2019, Nature communications)。Ifb-Fwd と Ifb-Bwd はそれぞれ前進運動、および後進運動で特異的に活動する。興味深いことに、Ifb-Fwd と Ifb-Bwd は同じ1次の前運動神経細胞を神経支配し、体節を短くする筋を抑制しながら、その拮抗筋である体節を長くする筋を亢進させるという、体節内制御を担っていることが明らかになった。この発見により、軸性運動を実現するための主要な制御である体節内制御について、回路機構の一つが明らかになった。一方、ショウジョウバエ幼虫の運動系を含めて、一般に軸性運動における体節間の制御についてはほとんど明らかになっていない。そこで、本研究課題では、ショウジョウバエ幼虫の運動回路をモデルとして、軸性運動における体節間制御機構を細胞レベルで明らかにすることを中心的な目的と設定した。

2. 研究の目的

本研究課題では、神経回路の細胞レベルでの解析が進んでいるショウジョウバエ幼虫中枢神経系をモデルに用いて、軸性運動において体節間制御を担う神経回路機構を解明する。

3. 研究の方法

体節間制御に関わる介在神経細胞を同定するために、カルシウムイメージングによる神経活動測定を行なった。カルシウムセンサータンパク質 GCaMP を用いると、細胞内のカルシウムイオン濃度を蛍光シグナルとして検出できる。神経細胞は、神経活動に伴ってカルシウムイオン濃度が上昇するという性質を持つので、神経細胞のカルシウムイメージングを行なうことで、神経活動を可視化することができる。ショウジョウバエで開発が進んでいる遺伝学的手法を用いて、少数の神経細胞に GCaMP センサータンパク質を発現させると、その神経細胞の活動を可視化することができる。この手法を用いて、様々な介在神経細胞に GCaMP を発現させて、各神経細胞の活動の時空間的パターンを調べた。

特徴的な活動パターンを示した介在神経細胞について、コネクティクスと呼ばれる神経回路のネットワークの地図を調べる手法を用いて、その介在神経細胞がネットワーク上でつながっている下流神経細胞を探索した。そして、カルシウムイメージングを用いて、その下流の神経細胞の活動を解析した。

同定した神経細胞の機能を調べるために、神経活動を光によって人為的に操作するオプトジェネティクスを用いた。同定した神経細胞の機能を亢進させたり、抑制させたりしたときにショウジョウバエ幼虫の運動がどのように変化するのかを動物や筋細胞の動画を分析することで明らかにした。

4. 研究成果

カルシウムイメージングを用いて介在神経細胞の活動パターンを詳しく調べたところ、各神経節に存在する A31c ニューロンが、運動の初期段階において、ほとんどの神経節で同期して亢進することを発見した。コネクトミクスによって A31c ニューロンの下流の神経細胞を探索したところ、A26f ニューロンが主要な下流の神経細胞であることが明らかになった。そこで、A26f の活動をカルシウムイメージングによって調べたところ、A31c と同様にほとんどの神経節で同期して亢進していた。引き続いて、A26f 介在神経細胞の下流の神経細胞を調べたところ、体軸に直交して走行する TM 筋細胞を神経支配する運動神経細胞が A26f の下流にあることが明らかになった。そこで、TM 筋細胞の活動を自由行動する幼虫において調べたところ、上流の介在細胞と同様に、ほとんどの体節で同期して収縮することが観察された。特にこの体節間で同期した活動はぜん動運動が体軸に沿って伝播する波の合間に見られた。これらの観察から、A31c-A26f-TM 筋を支配する運動神経細胞-TM 筋、という一連のネットワークが、個々のぜん動運動の波と波の間に同期して活動することが示唆された。

ぜん動運動の伝播波の間に A31c-A26f 回路が多体節にわたって同期して活動することから、この活動が伝播波と伝播波の間の時間幅を調整して、運動速度の調節を行なっているのはいか、という仮説を立てた。この可能性を検討するために、光遺伝学を用いて、A31c や A26f ニューロンの活動を人為的に操作して幼虫の運動に与える効果を調べた。まず、これらの神経細胞の神経伝達物質を調べたところにも GABA 陽性であったことから、抑制性シナプスを形成することが明らかになった。次に A26f ニューロンを亢進させたところ、これによって TM 筋細胞の収縮が抑制されることが観察された。逆に A26f ニューロンを抑制すると、TM 筋細胞の収縮が亢進した。この観察は A26f ニューロンが TM 筋細胞の活動に影響を与えることを示している。そして、A26f ニューロンの活動を抑制したときの幼虫の動きを調べたところ、TM 筋細胞が収縮する時間が長くなり、ぜん動運動の伝播波と伝播波の間の時間が長くなり、結果として、ぜん動運動の速度が遅くなった。逆に A26f ニューロンの活動を亢進させると TM 筋細胞の収縮時間が短くなり、運動速度が速くなった。A26f ニューロンの上流である A31c ニューロンの活動を制御しても TM 筋細胞の収縮時間、および運動速度が変化した。以上の結果より、これらの介在神経細胞の多体節にわたる同期活動が伝播間の TM の活動時間を調整することで軸性運動の速度制御をしていることが明らかになった。軸性運動の速度制御に関し、従来は、体軸に沿って伝播波が伝わる速度について詳しく調べられてきたが、本研究により、伝播波の速度制御に加え、伝播波と伝播波の間の時間差を担う多体節間の同期活動が重要であることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Matsuo Yuji, Nose Akinao, Kohsaka Hiroshi	4. 巻 19
2. 論文標題 Interspecies variation of larval locomotion kinematics in the genus <i>Drosophila</i> and its relation to habitat temperature	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Biology	6. 最初と最後の頁 1 ~ 21
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12915-021-01110-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Hiramoto Atsuki, Jonaitis Julius, Niki Sawako, Kohsaka Hiroshi, Fetter Richard D., Cardona Albert, Pulver Stefan R., Nose Akinao	4. 巻 12
2. 論文標題 Regulation of coordinated muscular relaxation in <i>Drosophila</i> larvae by a pattern-regulating intersegmental circuit	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1 ~ 14
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-021-23273-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 高坂洋史	4. 巻 54 (2)
2. 論文標題 複数の運動出力パターンを生み出す神経ネットワーク構造	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 月刊細胞	6. 最初と最後の頁 47 ~ 49
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fukumasu Kazushi, Nose Akinao, Kohsaka Hiroshi	4. 巻 156
2. 論文標題 Extraction of bouton-like structures from neuropil calcium imaging data	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neural Networks	6. 最初と最後の頁 218 ~ 238
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neunet.2022.09.033	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Giachello Carlo N. G., Hunter Iain, Pettini Tom, Coulson Bramwell, Kn?fer Athene, Cachero Sebastian, Winding Michael, Arzan Zarin Aref, Kohsaka Hiroshi, Fan Yuen Ngan, Nose Akinao, Landgraf Matthias, Baines Richard A.	4. 巻 42
2. 論文標題 Electrophysiological Validation of Monosynaptic Connectivity between Premotor Interneurons and the aCC Motoneuron in the Drosophila Larval CNS	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 6724 ~ 6738
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.2463-21.2022	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Sun Xiyang, Liu Yingtao, Liu Chang, Mayumi Koichi, Ito Kohzo, Nose Akinao, Kohsaka Hiroshi	4. 巻 20
2. 論文標題 A neuromechanical model for Drosophila larval crawling based on physical measurements	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BMC Biology	6. 最初と最後の頁 1 ~ 25
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12915-022-01336-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計18件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 松尾悠司、真中美穂、福益一司、能瀬聡直、高坂洋史
2. 発表標題 ショウジョウバエ近縁種における幼虫運動制御の種間比較
3. 学会等名 日本遺伝学会 第93回大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Fukumasu K., Nose A. and Kohsaka H.
2. 発表標題 Spatial configuration of synaptic population activities underlying the generation of larval motor patterns.
3. 学会等名 Cold Spring Harbor laboratory, meeting on Neurobiology of Drosophila (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Date T., Nose A. and Kohsaka H.
2. 発表標題 Dissecting the central nervous system in Drosophila larvae with expansion microscopy.
3. 学会等名 第14 回日本ショウジョウバエ研究会(JDRC14)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Fukumasu K., Nose A. and Kohsaka H.
2. 発表標題 Spatial configuration of synapse population activities underlying the generation of larval motor patterns.
3. 学会等名 第14 回日本ショウジョウバエ研究会(JDRC14)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Date T., Nose A. and Kohsaka H.
2. 発表標題 Dissecting the 3D structure of the Drosophila larval central nervous system with expansion microscopy.
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Fukumasu K., Nose A. and Kohsaka H.
2. 発表標題 Spatially continuous propagation of synapse population activity and its geometric structure in motor pattern generating circuits.
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Zhang X., Awasaki T., Nose A. and Kohsaka H.
2. 発表標題 Quantitative analysis of Drosophila larval locomotion based on machine vision.
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Y. Liu, MF.Zwart, A. Nose, H. Kohsaka.
2. 発表標題 A disinhibitory neural circuit for bending posterior segments in the initial phase of forward locomotion in Drosophila larvae
3. 学会等名 CSHL meeting "Molecular Mechanisms of Neuronal Connectivity (Virtual)" (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 X. Sun, C. Liu, K. Mayumi, K. Ito, A. Nose, H. Kohsaka
2. 発表標題 A neuromechanical model and kinematic analyses for Drosophila larval crawling based on physical measurements.
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 K. Fukumasu, A. Nose, H. Kohsaka.
2. 発表標題 A modular structure underlying generation of distinct motor patterns revealed by multi-synapse functional imaging and high-dimensional data analysis
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 K. Fukumasu, A. Nose, H. Kohsaka.
2. 発表標題 A neural circuit structure underlying generation of distinct motor patterns revealed by multi-synapse functional imaging and high-dimensional data analysis.
3. 学会等名 第20回東京大学生命科学シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 K. Fukumasu, A. Nose, H. Kohsaka.
2. 発表標題 Spatially continuous propagation of synapse population activity and its geometric structure in motor pattern generating circuits.
3. 学会等名 第6回脳情報動態領域会議
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Liu Y., Nose A., Zwart M.F. and Kohsaka H.
2. 発表標題 Synchronous multi-segmental activity between metachronal waves controls the crawling speed in fly larvae.
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会 (MBSJ2022) (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Liu Y., Nose A., Zwart M.F. and Kohsaka H.
2. 発表標題 Synchronous multi-segmental activity controls the speed of axial locomotion by modulating the interval between peristaltic waves in <i>Drosophila</i> larvae.
3. 学会等名 Neuroscience 2022, 51st Annual Meeting of the Society for Neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Date T., Nose A. and Kohsaka H.
2. 発表標題 Comprehensive characterization of the axon bundles in the Drosophila larval motor circuits with expansion microscopy.
3. 学会等名 第15 回日本ショウジョウバエ研究会 (JDRC15)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Fukumasu K., Nose A. and Kohsaka H.
2. 発表標題 Module structures in spatial distribution of activity timing and transmitters of synapse population in motor generating circuits.
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会 (NEURO2022)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Zhang X., Nose A. and Kohsaka H.
2. 発表標題 Automated real-time quantitative analysis of behavior in Drosophila larvae
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会 (NEURO2022)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Aoki A., Zhang X., Nose A. and Kohsaka H.
2. 発表標題 RNAi-based screening of neuromodulators involved in motor patterns of foraging behavior in Drosophila larvae
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会 (NEURO2022)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Kohsaka H. and Nose A.	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer Verlag	5. 総ページ数 12
3. 書名 Optogenetics in Drosophila, "Optogenetics 2nd edition"	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>EurekaAlert!, AAAS (American Association for the Advancement of Science) (2022年11月1日) "Extraction of bouton-like structures from neuropil calcium imaging data" 東京大学・プレスリリース (Fukumasu et al., Neural Networks (2022)) (2022年11月1日) 「密集したシナプス集団の活動データから統計力学的手法により単一シナプスを検出」 電気通信大学・ニュースリリース (Fukumasu et al., Neural Networks (2022)) (2022年11月1日) 「密集したシナプス集団の活動データから統計力学的手法により単一シナプスを検出」 日本経済新聞・電子版 (2022年6月15日) 「電通大と東大、物性測定に基づいた虫の動きの神経力学モデルを構築し高精度なシミュレーションに成功」 電気通信大学・ニュースリリース (Sun et al., BMC Biology (2022)) (2022年6月15日) 「物性測定に基づいた虫の動きの高精度シミュレーション」 東京大学・プレスリリース (Sun et al., BMC Biology (2022)) (2022年6月15日) 「物性測定に基づいた虫の動きの高精度シミュレーション」 UEC e-Bulletin, News and Events (Matsuo et al., BMC Biology (2021)) (2021年9月28日) Relationship between the speed at which insects move and the environmental temperature 科学新聞 (2021年9月10日) 「ショウジョウバエ幼虫 移動速度が気温と相関」 電気通信大学・ニュースリリース (Matsuo et al., BMC Biology (2021)) (2021年9月2日) 「虫が動く速さと環境温度の関係」 東京大学・プレスリリース (Matsuo et al., BMC Biology (2021)) (2021年9月2日) 「虫が動く速さと環境温度の関係」</p>
--

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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
米国	ジャネリア研究所		
英国	セントアンドリュース大学		