線虫の温度応答の分子生理メカニズム

久原 篤 甲南大学理工学部生物学科

1. はじめに

脳神経系の情報処理には、ニューロン同士を接続するシナプスが重要であり、シナプス伝達には興奮性と抑制性の2種類がある。これまで、単一のニューロンは、それと接続する単一のニューロンに対して、おもに興奮性か抑制性のどちらかの神経伝達しか行わないと考えられていた。しかし近年、線虫における解析から、これら2つの相反する神経伝達が同時に行われるケースが見つかってきた^{1), 2)}。さらに、興奮性か抑制性の切り替えスイッチとなるニューロン内のカルシウム濃度変化のパターンが、最新の光技術を駆使することで明らかとなってきた¹⁾。本稿では、それらの研究についての最新の結果を概説する。

2. 温度受容と記憶学習の神経回路と分子メカニズム

神経情報処理を解析するためのシンプルな実験動物として、線虫 *C. elegans* が使われている。*C. elegans* をもちいる利点として、電子顕微鏡解析から302個のニューロンの接続によって構成される全神経回路網が解明されている点があげられる。線虫の神経系はシンプルであるが、その行動様式は多用かつ複雑である。その1つとして、温度に対する行動である温度走性があげられる(図1)。温度走性とは、一定の温度下で飼育された線虫が、温度勾配に置かれた際に過去の飼育温度へ移動する行動である(図1a)。これまでに、この温度走性を制御するシンプルな神経回路と(図1b)^{3), 4)}、温度受容と記憶学習にかかわる多数の遺伝子同定されてきた⁴⁾⁻⁷⁾。最近では、温度受容ニューロンにおいて、温度情報が従来のTRP型のチャンネルではなく、3量体Gタンパク質で伝達されるケースが明らかになった⁴⁾。また、温度と餌の関連付け学習が、わずか3つの介在ニューロンで制御され、カルシウム依存性酵素や分泌性の神経ホルモンであるインスリンが学習に必須であることが明らかとなった⁵⁾⁻⁷⁾。このように、分子遺伝学などを使い、感覚と記憶学習の分子機構がひも解かれてきたが、神経回路情報処理の新概念の創出には、最新の技術を取り入れた別の角度からの解析が必須であった。

3. 光応答性チャンネルを使った神経の暗号の解読

神経活動をリモートコントロールできる光技術として、特定の波長光で開口するチャンネル分子が脚光を浴びている。その1つである、古細菌由来の光受容タンパク質であるハロロドプシン(HR)は、黄緑光を吸収すると、細胞外から細胞内へ Cl^- を輸送することが知られている。神経細胞は Cl^- が流入すると過分極となり神経活動が低下する。本研究では、温度走性を制御する神経回路の特定の神経細胞にHRを発現させ、

図1 光駆動性チャンネルによる行動操作。(a) 線虫は温度勾配上で過去の飼育温度に移動する。(b) 温度走性にかかわる神経回路。(c) 相反性シナプス伝達の分子機構モデル。

Molecular Physiological Mechanism of Temperature Response in Nematode *C. elegans*

Atsushi KUHARA

Department of Biology, Faculty of Science and Engineering, Konan University

※図1, 図2は、電子ジャーナル (<http://www.jstage.jst.go.jp/browse/biophys-char/ja/>) ではカラー版を掲載しています。

光照射によって神経活動を低下させることで、新たな神経機能の発見をめざした。

はじめに、行動中の線虫にピンポイントで励起光を照射する装置を開発した。具体的には、顕微鏡ステージ上の温度勾配装置の位置を自動で動かし、顕微鏡の光路から高速パルスで励起光を照射する装置をオリンパス社と共同で作製した。この開発には、設計から完成まで約3年を要した。開発した装置を使い、温度行動中の線虫の温度受容ニューロンの活動を光操作した。具体的には、温度受容ニューロン AFD に HR を発現させ、温度行動中に HR の励起光を照射し、神経活動を操作した。その結果、AFD で HR を活性化させた個体は、飼育温度よりも高温へ移動する好熱性異常を示した。この異常を見た時に非常に驚いた。その理由は、AFD の機能欠損変異体は、好冷性もしくは無走性の行動異常を示すことが報告されていたためであった。

AFD の活動低下が好熱性と好冷性という逆の行動異常を引き起こした原因を解析するために、AFD とその下流の介在ニューロン AIY の神経活動を細胞内 Ca^{2+} や膜電位のインディケーター遺伝子を使い測定した(図2)。その結果、AFD で HR を活性化させた個体では、AFD の温度変化に対する細胞内 Ca^{2+} 濃度の変化率が、野生株に対して約30%低下していた。その時の介在ニューロン AIY の活動を測定すると、AIY の活動はむしろ野生株より約30%上昇していた(図2中央)。一方、AFD の膜電位変化が欠損している変異体では、AFD および AIY の温度変化に対する応答が強く低下していた(図2右)。これらの解析から、AFD の活動低下率に応じて、介在ニューロンの活動逆転が起きる可能性が考えられた。また、HR を使わずに、野生株にさまざまな温度変化パターンを与えた実験においても、同様の神経活動の逆転が観察された。

4. 相反性シナプス伝達の分子機構

AFD と AIY の神経回路における神経情報伝達の分子機構に関しては、大西憲幸氏が分子遺伝学的解析を行った。その結果、AFD から AIY に、興奮性と抑制性の相反する2つの神経伝達が行われていることが明らかとなった(図2左)²⁾。さらに、抑制性神経伝達に小胞性グルタミン酸輸送体(VGLUT)が関与し(図1c)、その変異体はAFDの異常により好熱性の表現型を示すことが明らかとなった。このVGLUTの変異体のAFDにおいてHRを活性化させたと、AIYの神経活動に影響を与えなかった。この結果に対する考察は多数考えられるが、1つの可能性として、HRにより低下する部分の神経電位が、電位依存性チャネルなどを介して、抑制性のシナプス伝達の放出に関与している可能性があげられる。以上の結果などから、野生株のAFDでHRを活性化させると、AFD内にお

図2

神経回路の情報処理モデル。AFD から AIY には、興奮性と抑制性の神経伝達が行われる(左)。AFD の活動が約30%低下すると、抑制性の神経伝達が相対的に低下し、AIY の活動が約30%上昇(中央)。AFD の活動が約70%低下すると、興奮性と抑制性の両方の神経伝達が低下し、AIY の活動が約70%低下(右)。

ける抑制性の神経伝達が結果として抑えられ、相対的に興奮性の神経伝達が強くなることで、AIY の活性を上昇させているというモデルが考えられた(図2中央)。以上の結果などから、温度受容ニューロンから介在ニューロンへの興奮性と抑制性の神経伝達を使い分けるための生理的暗号が見つかった(図2)。この情報処理機構が、他の動物の神経情報処理においても存在しているかが今後の課題である。

5. おわりに

今回、光駆動性チャネルの利点である、意図した「場所」と「時間」で神経活動を制御するだけでなく、「意図した強さ」という点も生かし、回路の細かな暗号を見つけた。本結果が、今後の神経回路の暗号解読のきっかけになれば幸せである。

謝辞

共同研究者の大西憲幸博士(広島大)、下和田智康氏と森郁恵教授(名古屋大)に深謝いたします。

文献

- 1) Kuhara, A. *et al.* (2011) *Nature Commun.* **2**, 355.
- 2) Ohnishi, N. *et al.* (2011) *EMBO J.* **30**, 1376-1388.
- 3) Mori, I., Ohshima, Y. (1995) *Nature* **376**: 344-348.
- 4) Kuhara, A. *et al.* (2008) *Science* **322**, 803-807.
- 5) Kuhara, A. *et al.* (2002) *Neuron* **33**, 751-763.
- 6) Kodama, E. *et al.* (2006) *Genes Dev.* **20**, 2955-2960.
- 7) Kuhara, A., Mori, I. (2006) *J. Neurosci.* **26**, 9355-9364.

久原 篤

久原 篤(くはら あつし)

甲南大学理工学部生体調節学久原研究室講師
2004年名古屋大院理修了、学振PD、名古屋大学院理学研究科助手、助教、講師を経て11年より現職。
07年井上研究奨励賞、11年赤崎賞、11年長瀬研究振興賞、12年文部科学大臣表彰。
研究内容:動物の環境応答、趣味:水泳。
連絡先:〒658-8501 兵庫県神戸市東灘区岡本8-9-1
E-mail: atsushi_kuhara@me.com
HP:「久原篤」で検索