

論文審査の結果の要旨

氏名 奥沢 暁子

本研究では、ショウジョウバエ幼虫の方向転換行動を解析し、方向転換行動のうち **Rearing**（首持ち上げ）行動を制御する神経回路に着目し、セロトニン神経→セロトニン受容体を持つロイコキニン神経→ロイコキニン受容体を発現する神経→**Rearing** の抑制、という回路を同定することに成功した。

ショウジョウバエ幼虫は、青色光に対し逃避性の反応を示す。そのため強い青色光を頭部領域に投射された幼虫は、投射領域から脱するために方向転換行動を行う。本研究ではこの性質を用いて、青色光の投射によって方向転換行動を人工的に誘起する実験系を構築し、方向転換行動の運動要素を詳細に検討した。その結果、方向転換行動は、3つの動作要素、**Bending**（左右首ふり）、**Retreating**（後退）、**Rearing**（首持ち上げ）で成り立つことがわかった。この3つの動作要素は同じような頻度で方向転換行動に含まれるわけではなく、**Bending** に比べて **Rearing** と **Retreating** の発生頻度は大きく抑制されている。

次に、この方向転換行動の動作要素の選択を制御する神経回路機構としてセロトニン作動性神経細胞に着目した。セロトニンは神経伝達物質として、多くの動物種で様々な行動や情動の制御に関与しているが、ショウジョウバエでは働きがわかっていなかった。セロトニン作動性神経細胞の神経伝達を抑制すると、方向転換行動動作要素のうち、**Rearing** のみが選択的に抑制されることがわかった。ここで、セロトニン作動性神経細胞の抑制は、遺伝子工学的に温度感受性変異ダイナミン **Shibire**（温度を29℃以上に上げると活性を失う）を挿入し、シナプス小胞のリサイクルを止めることで、セロトニン放出を抑制することによって行った。脳ではなく、腹部神経節内のセロトニン作動性細胞が **Rearing** の抑制を担うことを示した。さらにセロトニン受容体作動薬を投与したセロトニン放出が過剰な状況下でも、**Rearing** の発生が減少したことから、セロトニンによる神経伝達が **Rearing** 頻度を調節することが明らかとなった。

次に、このセロトニン神経の下流を検討した。4種類のセロトニン受容体のうち、**5-HT1BDro** を発現した神経細胞の神経伝達を抑制すると、**Rearing** の発生率が増加した。この抑制は、**5-HT1BDro** 変異体を用いた **5-HT1BDro** のノックダウンや、RNA干渉法を用いた **5-HT1BDro** の発現抑制、また上述した **Shibire** による神経伝達阻害によって行った。このようにしてセロトニンを介した方向転換制御が、セロトニン受容体 **5-HT1BDro**

によって伝達されることを特定した。更に、遺伝工学的に 5-HT1BDro 神経細胞に GFP を発現させて、GFP 蛍光で可視化して形態を観察することと、ロイコキニン抗体での組織染色を組み合わせることで、一部の 5-HT1BDro 細胞が、神経ペプチドであるロイコキニンを放出する神経であることを見出した。この神経伝達を Shibire を用いて抑制すると、Rearing 発生率が上昇することから、この 5-HT1BDro 細胞の一部であるロイコキニン陽性神経細胞の活動が、Rearing 発生率の調節に十分であることが示唆された。また、RNA 干渉法によってロイコキニン発現を抑制した際に Rearing の発生が増加した。一方で、ロイコキニン陽性の 5-HT1BDro 神経細胞を遺伝子工学的に強制発現させた温度感受性陽イオンチャネル dTrpA1 によって過剰興奮した時にも Rearing 発生率は増加した。このことは、ロイコキニン作動性細胞の活動の抑制・過剰のどちらを引き起こしても Rearing 発生率が適切に調節されないことを表しており、ロイコキニン陽性 5-HT1BDro 細胞の適切な神経活動が、方向転換行動の正常な運動要素構成の実現に必要な可能性を示唆している。最後に、抗ロイコキニン抗体による免疫染色によって腹部神経節内に分布するロイコキニン受容体の分布を明らかにし、ロイコキニンが腹部神経節内において機能している可能性を示した。

以上要約すると、本研究では、ショウジョウバエ幼虫の方向転換行動を構成する 3 要素のうち、Rearing（首持ち上げ）行動がセロトニン作動系、そしてその直接の下流であるロイコキニン作動系によって制御されていることを示すことに成功したという点で、神経細胞生物学上有意義な貢献をしたものと認められる。

なお本論文は、能瀬聡直博士と高坂洋史博士との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

よって審査委員一同、博士（理学）にふさわしい研究と判断した。