

論文の内容の要旨

論文題目

線虫 *C. elegans* の化学感覚を制御する神経回路メカニズムの解析

(Analysis of neural circuit mechanisms

regulating chemical sensation in *C. elegans*)

氏 名 吉田 和史

動物は化学物質や温度、光など外界からの様々な刺激を感覚神経で受容し、その情報を神経回路上で処理することにより、それぞれの刺激に対して適切な応答を行っている。さらに、これらの応答は刺激の種類や強度によって変化することが知られている。しかし、ヒトを含む高等動物は非常に複雑な神経系を有しているために、神経回路上での情報処理機構を明らかにすることは困難である。

線虫 *C. elegans* は、302 個からなる神経細胞とそれらの間の神経接続が明らかにされているために、情報処理の神経回路メカニズムを解析するのに最適なモデル生物である。また、線虫は 100 種類以上の化学物質に対して誘引行動もしくは忌避行動を示し、その行動を詳細に解析する系が確立されている。そこで、私は、線虫の行動を指標とした化学感覚を制御する神経回路メカニズムの解析を行うことで、動物の行動の動作原理を理解しようと考えた。

線虫は **NaCl** を味覚神経 **ASE** で受容し、介在神経を含む神経回路を介してシグナルを伝達し、誘引行動を引き起こす。線虫の **NaCl** への誘引行動にはピルエット機構と風見鶏機構という 2 つの行動戦略が重要であることが報告されている。ピルエット機構(クリノキネシスとも呼ばれている)では、ピルエット行動と呼ばれる方向転換を行う行動の頻度を調節し、**NaCl** の濃度が低くなると進行方向を修正する。もう一方の風見鶏機構(クリノタクシスとも呼ばれている)では、カーブ行動の角度を調節し、**NaCl** の濃度の高い方にカーブするようにバイアスをかける。また、これら 2 つの行動応答には味覚神経 **ASE** と下流の介在神経 **AIZ** が関与することが示されている。しかし、これらの行動戦略の基盤となる神経回路の全ては明らかとなっていない。そこで本研究では、化学感覚の情報処理過程を理解するために、特定の神経を破壊した線虫の **NaCl** に対する行動を測定し、2 つの行動戦略を制御する神経回路の同定を行った。

NaCl に誘引される時の 2 つの行動応答を制御する候補神経細胞として、感覚神経 **ASE** とシナプス接続する介在神経を調べた。介在神経 **AIA** と **AIB** をそれぞれ単独で破壊すると、ピルエット応答が減弱した。一方で、介在神経 **AIA**、**AIB**、**AIY** をそれぞれ単独で破壊しても風見鶏応答は正常だったが、介在神経 **AIB** と **AIY** を同時に破壊すると風見鶏応答が減弱した。これらの結果から、ピルエット応答は介在神経 **AIA** と **AIB** により制御されていることが明らかになり、風見鶏応答は介在神経 **AIB** と **AIY** により冗長に制御されていることが示された。

次に、介在神経 **AIZ** とシナプス接続している神経や、2 つの行動戦略への関与が予想される神経について調べた。ピルエット行動に必要なだと予測されるコマンド介在神経 **AVA** を破壊すると、ピルエット応答にのみ欠陥がみられた。また、**AIZ** 神経とシナプス接続しており、首振り運動を制御する運動神経 **SMB** を破壊すると、ピルエット応答、風見鶏応答の両方に欠陥がみられた。これらの結果から、ピルエット応答に必要なコマンド介在神経と、2 つの行動応答に必要な運動神経の存在が明らかになった。

以上の解析により、**NaCl** への誘引行動を実現している 2 つの行動戦略の制御には、部分的に異なる神経回路が使われていると考えられる (図 1)。

前述のように、動物は外界からの刺激に対して特定の応答を示すが、その応答は刺激の強度に依存して変化することが知られている。嗅覚系では、匂いの濃度に依存して嗜好性が変化する。例えば、匂い物質インドールは、低濃度ではジャスミンのような花の香りがするが、高濃度では糞便臭がする。線虫の嗅覚系でも同様に、低濃度で誘引行動を示す匂い物質に対して、高濃度では忌避行動を示す現象が報告されている。しかし、刺激強度に依存した行動変化の神経・分子メカニズムについてはあまりわかっていない。そこで本研究では、線虫の匂いの濃度に依存した行動変化を調節する神経回路・分子メカニズムの解析を行った。

匂いの濃度に依存した行動変化はどのような行動メカニズムにより調節されているのだろうか。低濃度の匂いへの誘引行動には、前述の2つの行動戦略が匂いに近寄るように働くことが知られている。そこで、高濃度の匂いに対する忌避行動を行う際の2つの行動戦略を解析した。その結果、ピルエット機構は匂いから遠ざかるように働いていたが、一方で、風見鶏機構は匂いに近寄るように作用していた。従って、匂いの濃度による誘引行動から忌避行動への走性行動の切り替えは、主にピルエット機構によって実現されていることがわかった。

それでは、匂いに対する行動を調節する2つの行動戦略はどのような分子メカニズムにより制御されているのだろうか。匂いのシグナルを伝達するGタンパク質の α サブユニットをコードする *odr-3* の変異体は、匂い物質イソアミルアルコールの濃度に依存した行動の変化に欠陥を示すことが知られている。行動解析の結果、**ODR-3** は匂いの濃度の違いによって変化する2つの行動戦略の制御に重要であることがわかった。また、低濃度のイソアミルアルコールへの誘引行動の際、**ODR-3** は誘引性の匂いを受容する感覚神経 **AWC** で機能することが報告されている。そこで、高濃度のイソアミルアルコールに対する忌避行動の際の **ODR-3** の機能細胞を特定するために、細胞特異的レスキュー実験と細胞特異的ノックダウン実験を行った。その結果、**ODR-3** は忌避物質を受容する感覚神経 **ASH** で高濃度のイソアミルアルコールのシグナルを伝達していることが示された。これらのことから、**ODR-3** は匂いの濃度によって異なる感覚神経で匂いのシグナルを伝達していると考えられる。

匂いの濃度に依存した行動変化を制御する神経回路を同定するために、特定の神経を破壊した線虫の行動を測定した。低濃度のイソアミルアルコールへの誘引行動には感覚神経 **AWC** が必要であることが知られている。一方、高濃度のイソアミルアルコールに対する忌避行動には、忌避物質を受容する感覚神経 **ASH**、**AWB**、**ADL** が必要で、中でも **ASH** 神経が特に重要であることが明らかとなった。これらの結果から、匂いの濃度の違いにより起こる誘引行動と忌避行動には、それぞれ異なる組み合わせの感覚神経が必要であることが示された。

上記の感覚神経で実際に匂いの濃度に依存した応答の変化がみられるかを調べるために、 Ca^{2+} イメージングを行った。その結果、感覚神経 **AWC** は低濃度の匂いには応答するが、高濃度のときは応答しないことが明らかとなった。神経伝達物質の放出が阻害された変異体では、**AWC** 神経は高濃度の匂いにも応答を示したことから、他の神経からの抑制により **AWC** 神経は高濃度の匂いに応答しなくなっていると考えられる。一方、感覚神経 **ASH** と **ADL** は、高濃度の匂いにものみ応答することが分かった。また、感覚神経 **AWB** は高濃度の匂いに対して、忌避性の匂いに対する応答と同様の応答パターンを示した。

以上の解析より、匂いの濃度情報が感覚神経における応答の差異を生み出すことで行動が切り替えられていると考えられ、線虫における匂いの濃度情報処理の主要な部分は、感覚神経レベルで処理されていることが示唆された (図 2)。

本研究では、線虫の味覚と嗅覚に関わる行動を制御する神経回路メカニズムを探索した。味覚系において、2つの行動戦略に必要な塩の情報には主に単一の感覚神経で受容されるが、それより下流の介在神経や運動神経では、部分的に共通の神経回路が用いられ、ピルエット行動とカーブ行動がそれぞれ出力されていると考えられる。嗅覚系においては、匂いの濃度によって感覚神経の応答に差異が生み出されることで、行動を切り替えられていると考えられる。本研究により、化学物質が受容されてから行動出力に至るまでの情報処理は、感覚神経や介在神経、運動神経といった様々なクラスの神経で行われており、刺激の種類や強度によって情報処理の様式も異なることを明らかにすることができた。今後、線虫の行動を指標にした神経回路レベルの解析により、化学感覚の情報処理メカニズムの更なる理解が期待される。

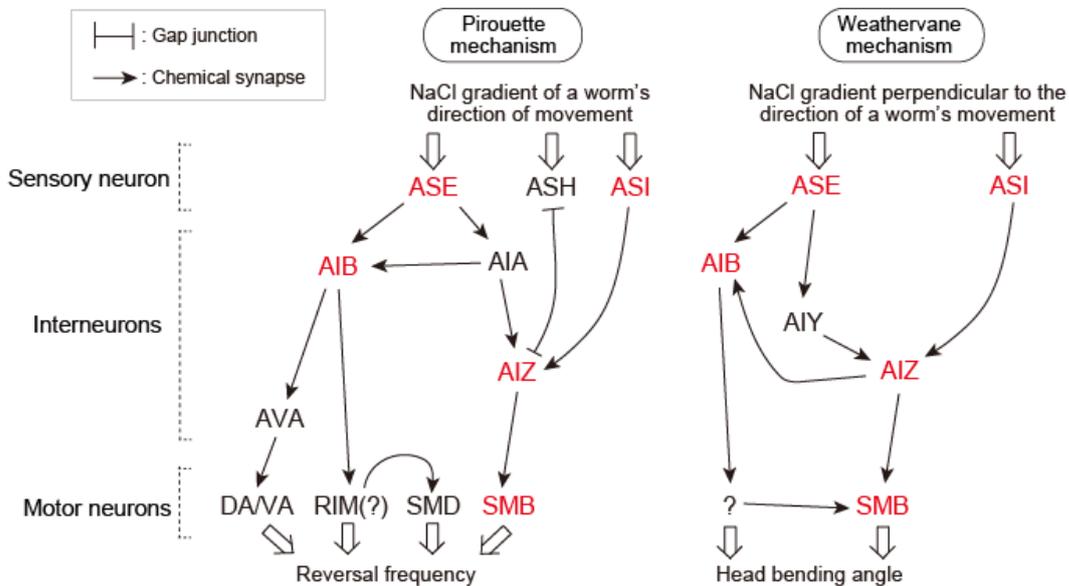


図1 NaClへの誘引行動を調節する2つの行動戦略を制御する神経回路モデル

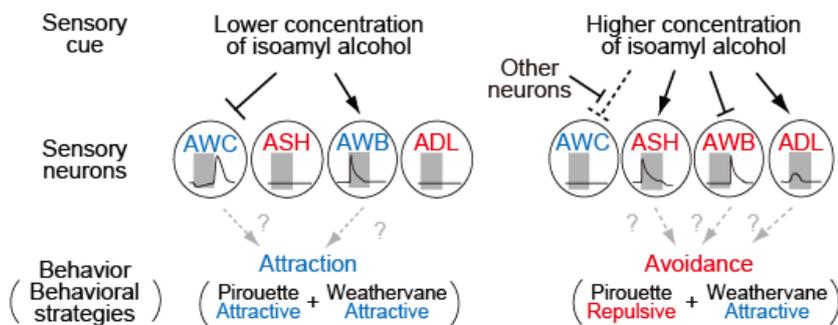


図2 匂いの濃度に依存した行動の変化を制御する神経回路モデル