

- 6) Sajikumar, S. & Frey, J.U. (2004) *Neurobiol. Learning Memory*, 82, 12–25.
- 7) Martin, K.C. & Kolic, K.S. (2002) *Nature Rev. Neurosci.*, 3, 813–820.
- 8) Okada, D., Ozawa, F., & Inokuchi, K. (2009) *Science*, 324, 904–909.
- 9) Kato, A., Ozawa, F., Saitoh, Y., Hirai, K., & Inokuchi, K. (1997) *FEBS Letters*, 412, 183–189.
- 10) Niibori, Y., Hayashi, F., Hirai, K., Matsui, M., & Inokuchi, K. (2007) *Neurosci. Res.*, 57, 399–410.
- 11) Inoue, Y., Udo, H., Inokuchi, K., & Sugiyama, H. (2007) *Neuroscience*, 150, 841–852.
- 12) Inoue N., Nakao, H., Migishima, R., Hino, T., Matsui, M., Hayashi, F., Nakao, K., Manabe, T., Aiba, A., & Inokuchi, K. (2009) *Mol. Brain*, 2, 7.
- 13) Wang, D.O., Kim, S.M., Zhao, Y., Hwang, H., Miura S.K., Sossin, W.S., & Martin, K.C. (2009) *Science*, 324, 1536–1540.

岡田 大助¹, 井ノ口 馨^{2,3}

¹北里大学大学院医療系研究科分子神経生物学,
北里大学医学部生化学,

²富山大学大学院医学薬学研究部,
富山大学医学部生化学,

³JST, CREST)

Molecular evidence for synaptic tagging hypothesis
Daisuke Okada¹ and Kaoru Inokuchi^{2,3} (¹Kitasato University, School of Medicine, 1-15-1 Kitasato, Minami-ku, Sagami-hara 252-0374, Japan, ²Toyama University, School of Medicine, 2630 Sugitani, Toyama 930-0194, Japan)

分子遺伝学で探るシヨウジョウバエの聴覚と重力感覚の神経回路

はじめに

分子遺伝学ツールが整備されたモデル生物を利用した脳研究が、近年急速に拡大してきた。特定の細胞で任意の遺伝子を発現させることができる遺伝子発現誘導系を用いると、神経細胞を解析するための様々なタンパク質を、目的の細胞のみで発現誘導できる¹⁾。例えば GFP などの、神経細胞の形態を可視化するようなタンパク質を発現させれば、従来抗体染色やゴルジ染色で行われていた解剖学的解析を置きかえることができる。異なる種類の遺伝子発現誘導系を組み合わせることにより、別々の細胞群を異なるタンパク質で染め分けることも可能である²⁾。また、神経活動に応じて蛍光が変化するタンパク質や、神経の発火やシ

ナプス伝達を阻害するような毒素を発現させた個体を作成すれば、特定の条件下における神経細胞の活動や、その阻害が脳機能に及ぼす効果を観察できる。光や熱刺激によって開口するチャンネルタンパク質を発現させることで任意のタイミングで特定の神経活動を操作することができる。光遺伝学や熱遺伝学も発展してきた³⁾。このようなツールの発達により、解剖学・生理学・行動学を連携させて特定の神経の機能を統合的に解析することが可能になってきたのである。

私たちは、音情報を処理する神経機構を解明するためのモデルとして、このような遺伝子発現誘導系が整備されたシヨウジョウバエにいち早く着目し、研究を行ってきた。これまでの研究により、6億年以上前に分岐した生物種であるシヨウジョウバエと哺乳類の脳において、視覚・嗅覚・味覚など様々な感覚情報処理系の神経回路に多くの類似性が見いだされている⁴⁻⁶⁾。これは、シヨウジョウバエの脳の理解が、私たちの脳における感覚情報処理の理解にも貢献しうることを示している。また、シヨウジョウバエは求愛や学習記憶で高度な行動様式を示すにも関わらず、脳の神経細胞数が片半球数万個と少ない。そのため、特定の感覚情報処理に関わる神経細胞を網羅的に同定する、といった解析も現実的である。本稿では、このような観点から私たちが進めてきた、シヨウジョウバエを用いた聴覚・重力感覚研究の最新知見を紹介する。

1. シヨウジョウバエの「耳」の感覚細胞

空気の微小な振動として伝わる「音」と、物体にかかる力の向きである「重力」を、私たちはどちらも耳で受容する。哺乳類の内耳には音を感知する「蝸牛器官」と、直線加速度や重力の方向を感知する「耳石器官」という別々の感覚器が存在し、それぞれ蝸牛核と前庭核とよばれる脳の中枢に情報を送っている。ヒトなどの哺乳類と同様に、昆虫においても音検知は外界環境の認知や仲間どうしのコミュニケーションに、重力検知は姿勢の制御に大きな役割を果たしている。例えばシヨウジョウバエは、種特異的な周波数と時間パターンを持つ求愛歌(羽音)を持ち、その求愛歌により雌雄共に配偶行動が促進される⁷⁾。これは、脳が音の持つ特徴を認識して適切な行動を導き出す、という一連の神経機構を理解するためのモデルとして、シヨウジョウバエの聴覚系が有用であることを意味している。そこで私たちはまず、シヨウジョウバエの「耳」から始まる一次神経回路の解析を開始した。シヨウジョウバエは触角基部にあるジョンストン器官と呼ばれる機械感覚器で音を

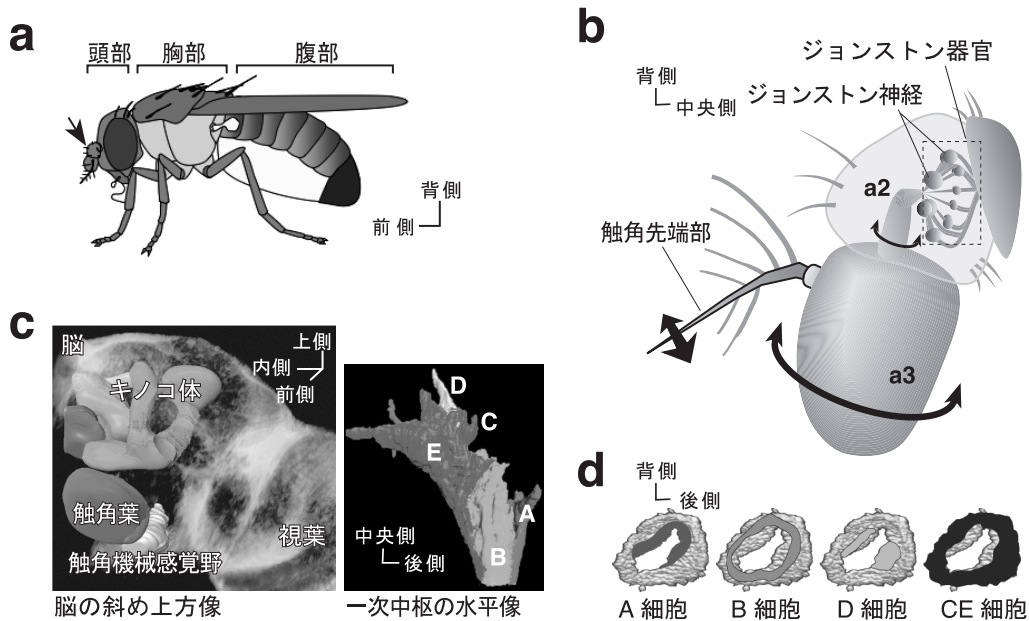


図1 ショウジョウバエの「耳」

(a) ショウジョウバエは、頭部前方に触角を持つ(矢印)。帝京平成大学・平郁子博士より提供。(b) 触角基部のジョンストン器官。触角先端部の動きにより触角第三節(a3)が回転振動し(双矢印)、第二節(a2)内部のジョンストン神経に張力をもたらす。(c) ショウジョウバエの脳の全体像(左図)およびジョンストン神経の一次中枢(右図)。一次中枢は五つの領域A-Eに区別される。(d) ジョンストン神経の細胞体配置。脳の一次中枢の特定の領域A-Eに投射する感覚細胞群A-Eはジョンストン器官の中で特定の細胞体配置を持つ。文献8, 9より転載。

受容する^{7,8)}(図1)。ジョンストン器官の感覚細胞(ジョンストン神経)は張力を受けて興奮する神経細胞であり、私たちの耳の感覚細胞である有毛細胞に相当する。私たちはジョンストン神経を分子遺伝学的に解析するツールを得るために、約4,000種類のショウジョウバエ系統をスクリーニングし、ジョンストン神経の全体やその一部で選択的に遺伝子発現を誘導できる系統群を選出した。次にこれらの系統群を用いてGFPなどのマーカータンパク質を発現させ、単一細胞レベルで神経投射の様式を網羅的に解析した。その結果、約480個のジョンストン神経は5種類の細胞群A-Eに分類され、それぞれの細胞群は脳の特定の一次中枢内部にある五つの異なる領域A-Eに分かれて投射することを発見した⁹⁾(図1)。

2. ハエの「耳」は音と重力を感じ分ける

では、それぞれ固有の一次投射領域を持つ5種類の細胞群は、それぞれどのような感覚刺激に応答するのだろうか？ 私たちは、解剖学的な解析に利用した系統群を用いて、今度はカルシウムイメージングによって「耳」の感覚細胞群の神経活動を可視化した。触角先端部に様々な動き

を与えた時のカルシウム応答を解析したところ、脳の一次中枢の領域AB(領域Aと領域Bの合計)に投射する感覚細胞(AB細胞)は振動に、領域CE(領域Cと領域Eの合計)に投射する感覚細胞(CE細胞)は静的変位に選択的に反応し、さらに領域Aに投射するA細胞は高周波、Bに投射するB細胞は低周波の振動にそれぞれ選択性を持つことが分かった⁹⁾(図2)。つまり、高周波および低周波の振動と静的変位の情報はハエの「耳」の中の異なる細胞群によって別々に受容され、異なる一次中枢に伝わることになる。次に、振動に選択的に反応したB細胞または静的変位に選択的に反応したCE細胞に破傷風菌毒素を特異的に発現させて、それぞれの神経伝達を遮断した個体を作成した。これらのハエ個体の行動を解析したところ、B細胞の遮断は求愛歌音に対する行動を、CE細胞の遮断は驚いた時に重力軸に対して上に逃避する行動を特異的に阻害することを見いだした⁹⁾。さらにCE細胞の阻害は、ショウジョウバエの、風に対し身構えて静止する、といった本能行動も消失させた¹⁰⁾。これらの結果から、振動を受容する細胞から始まる神経経路は音、静的変位を受容する細胞から始まる神経経路は重力・風の情報を伝えることが

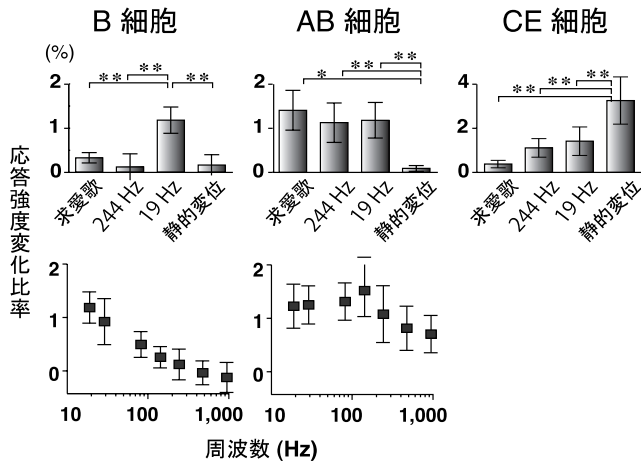


図2 感覚細胞の応答特性
4種類の刺激(求愛歌, 244 Hz および 19 Hz のサイン波振動, 静的変位)に対する, 各細胞群のカルシウム応答変化比率(上段), ならびに振動周波数ごとの応答変化比率(下段)を示す. B細胞は低周波振動, AB細胞(A細胞とB細胞の合計)は振動一般に選択的に応答する. よって, A細胞は高周波振動に選択性を持つと考えられる. CE細胞は静的変位に選択性を持つ. 文献9より転載.

分かった. さらに私たちはショウジョウバエの「耳」における機械刺激受容体と想定される transient receptor potential (TRP) チャンネルのひとつである *NompC* の遺伝子発現を調べ, 振動受容細胞で選択的な発現を示すことを見いだした⁹⁾. これにより, *NompC* は音刺激の受容体である可能性が提示された.

3. 音および重力・風の情報を受け取る脳の中樞経路

以上の解析から, ショウジョウバエの「耳」は, それぞれ異なる感覚細胞が音と重力・風の情報を分担して受け取り, それぞれ特定の一次中枢に伝達することが分かった. 次に私たちは, これらの情報が処理される脳の中樞経路の同定に着手した. 先ほどと同様に, それぞれの一次中枢に投射する二次神経で選択的に発現誘導できる系統群をスクリーニングし, 解剖学的な解析を行った. その結果, 音経路の一次中枢である領域 AB には, これらの領域と脳の高次領域や, 左右脳半球の間を結ぶ高次神経が多いことが判明した⁹⁾. 一方で, 重力・風の一次感覚野である領域 CE では脊髄に相当する胸部神経節との連絡を担う神経線維が

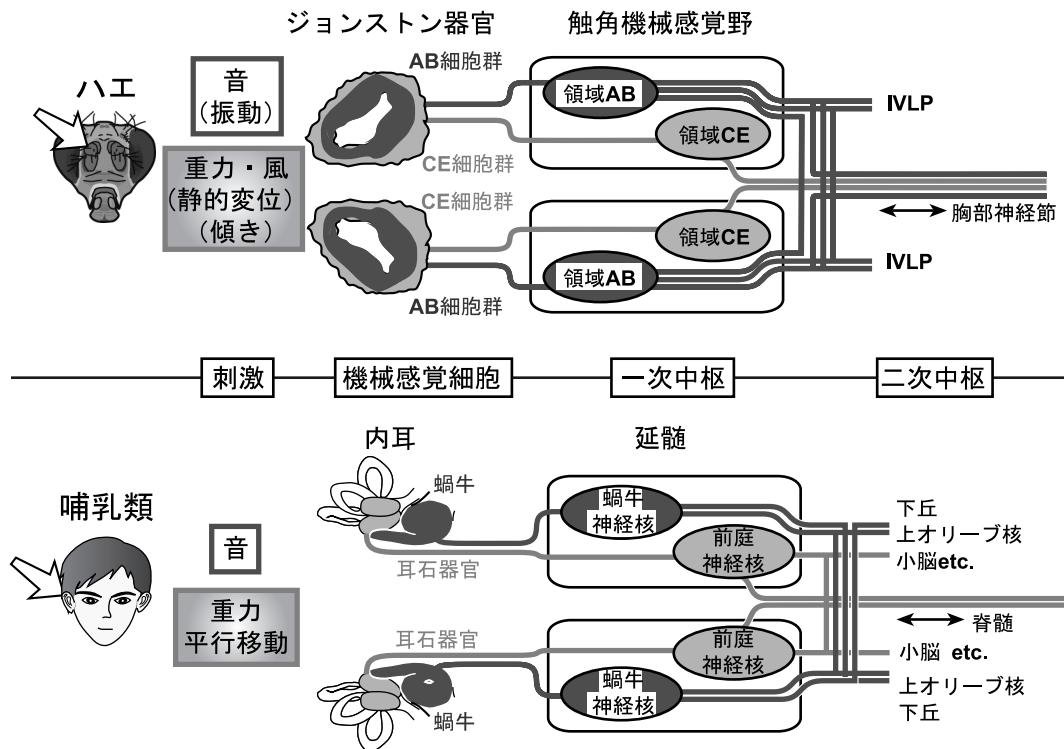


図3 ショウジョウバエと哺乳類の機械感覚経路
両者とも, 音経路(濃灰色)は高次領域への投射(ハエではIVLP, 哺乳類では上オリーブ核など)ならびに左右脳半球間の密な接続, 重力経路(薄灰色)は体幹部(ハエでは胸部神経節, 哺乳類では脊髄)への直接投射経路を持つという共通の構造的特徴を持つ. 白矢印は両者の「耳」を示す. 文献9より転載.

多く同定され、左右脳半球間や脳の高次領域への二次神経は同定されなかった⁹⁾。このような、それぞれの情報経路に特徴的な神経回路の構造は、哺乳類が音や重力の情報を処理する神経回路の構造^{11,12)}と良く類似している (図3)。

おわりに

ハエと哺乳類では、音や重力を受容する末梢感覚器である「耳」の形態は大きく異なっている。しかし、今回の私たちの研究から、音や重力の情報を処理する神経回路の構造は、意外にも両者で似通っていることが判明した。類似の感覚情報を処理する神経回路の構造に収斂進化が起こった可能性があり、興味深い。今後、音や重力情報を処理する動物一般に適用可能な神経回路基盤の解析モデルとして、さらに高次の神経回路の同定や機能解析も可能なショウジョウバエの脳の利用が進むと期待される。

- 1) Brand, A.H. & Perrimon, N. (1993) *Development*, **118**, 401-415.
- 2) Lai, S.L. & Lee, T. (2006) *Nat. Neurosci.*, **9**, 703-709.
- 3) Pulver, S.R., Pashkovski, S.L., Hornstein, N.J., Garrity, P.A., & Griffith, L.C. (2009) *J. Neurophysiol.*, **101**, 3075-3088.
- 4) Sanes, J.R. & Zipursky, S.L. (2010) *Neuron*, **66**, 15-36.
- 5) Wilson, R.I. & Mainen, Z.F. (2006) *Annu. Rev. Neurosci.*, **29**, 163-201.
- 6) Ebbs, M.L. & Amrein, H. (2007) *Pflugers Arch.*, **454**, 735-747.
- 7) Tauber, E. & Eberl, D.F. (2003) *Behav. Processes*, **64**, 197-210.
- 8) Kamikouchi, A., Shimada, T., & Ito, K. (2006) *J. Comp. Neurol.*, **499**, 317-356.
- 9) Kamikouchi, A., Inagaki, H.K., Effertz, T., Hendrich, O., Fiala, A., Göpfert, M.C., & Ito, K. (2009) *Nature*, **458**, 165-171.
- 10) Yorozu, S., Wong, A., Fischer, B.J., Dankert, H., Kernan, M.J., Kamikouchi, A., Ito, K., & Anderson, D.J. (2009) *Nature*, **458**, 201-205.
- 11) Cant, N.B. & Benson, C.G. (2003) *Brain Res. Bull.*, **60**, 457-474.
- 12) Büttner-Ennever, J.A. (1999) *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **871**, 51-64.

上川内 あづさ

(東京薬科大学 生命科学部 脳神経機能学研究室)

Exploring the neural circuits for sound and gravity senses in the fruit fly

Azusa Kamikouchi (School of Life Sciences, Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences, 1432-1, Horinouchi, Hachioji, Tokyo 192-0392, Japan)

酵母分泌経路における Rab-GEF カスケードの調節

1. はじめに

細胞内小胞輸送は、多岐にわたる細胞機能—細胞外からの栄養の吸収、神経伝達物質の分泌、細胞極性の構築・維持など—を果たす上で重要な役割を担っている。低分子量 G タンパク質である Rab タンパク質は、細胞内小胞輸送を制御する中心的な因子である。Rab は活性型である GTP 結合型と、不活性型である GDP 結合型の二つのコンフォメーションを行き来する分子スイッチとして機能する。GDP 結合型から GTP 結合型への変換は、グアニンヌクレオチド交換因子 (guanine nucleotide exchange factor, GEF) により行われる。一方、GTP 結合型から GDP 結合型への変換は Rab 自身の GTP アーゼ活性により GTP が加水分解されることによって起こり、この反応は GTP アーゼ活性化タンパク質 (GTPase-activating protein, GAP) により促進される。

GTP 結合型の Rab は多くのタンパク質と相互作用し、これらの結合タンパク質はエフェクターと呼ばれる。エフェクタータンパク質は、小胞の出芽、細胞骨格に沿った小胞の移動、小胞の繫留およびターゲット膜との融合、といった細胞内小胞輸送の一連のステップを制御する¹⁾。

ホスファチジルイノシトール (phosphatidyl inositol, PI) はイノシトール環の 3, 4, 5 位がリン酸化されることにより親水性頭部の異なったリン脂質種に変換され、それらは細胞内で特徴的な分布を示す。3 位がリン酸化されたホスファチジルイノシトール 3-リン酸 (PI3P) はエンドソームに、4 位がリン酸化されたホスファチジルイノシトール 4-リン酸 (PI4P) は主にゴルジ体に局在する。オルガネラからオルガネラへの小胞輸送においては、これら PI が重要な役割を担っていることがよく知られている²⁾。

酵母 Sec4 は Rab として初めて同定されたタンパク質であり、エキソサイトーシス経路の最終ステップを制御する因子である。Sec4 の機能にはその特異的 GEF である Sec2 による活性化が不可欠である。本稿では Sec2 が PI4P との結合によって Rab-GEF カスケードの調節を行うことを示した最近の筆者らの報告を中心に、酵母エキソサイトーシス経路について概説する³⁾。