

【研究紹介】

ショウジョウバエ視覚系を用いた神経科学研究

Neurobiology Research in the *Drosophila* visual system

金沢大学 脳・肝インターフェースメディスン研究センター
 金沢大学大学院 医学系研究科 脳医科学専攻 神経発生学研究分野
 佐藤 純

はじめに

ショウジョウバエはヒトをはじめとしたほ乳類と比べるときわめて単純な動物だと思われるが、その脳は我々が考えるよりもはるかに複雑である。現代の神経科学の父とも言えるカハールも晩年には昆虫の神経系に興味を持ち、ゴルジ法によって染色したハエ視覚中枢の神経回路を見てその複雑さ、精密さに驚嘆したと残している¹⁾。一方、モルガンは遺伝子の実体がDNAであるということが明らかにされるよりもずっと以前にショウジョウバエを用いて遺伝の基本メカニズムを明らかにし、今日の分子遺伝学の基礎を築いた²⁾。

ハエの視覚中枢はきわめて複雑であり、分子遺伝学的手法を用いて視覚中枢の神経回路を解析することは近代的な技術を持ってしても非常に困難である。カハールの解剖学研究とモルガンの遺伝学研究は偶然にも同じ1915年に発表されたが、2つの研究が交差することは1世紀もの間ほとんど無かった。しかし、ここ数年で状況が大きく変わりつつある。ハワードヒューズの新しい研究所であるジャネリアファームのグループが多大な資源を投じてハエ視覚系の研究を推進しているためである。彼ら自身の研究が進展することはもちろん、彼らが開発した遺伝学的ツールが世界中で利用されることにより、この研究分野が今後大きく発展すると期待できる^{3,4)}。ジャネリアファームではハエ視覚中枢の全ての神経細胞を同定し、全ての神経回路の働きを明らかにしようとしているが、このような大規模な研究が行われている状況でも、視点を変えることにより独自の研究を推進することができる。

当研究室(神経発生学研究分野)ではハエ視覚中枢の神経回路を形成する発生メカニズムに興味を持って研究している。ハエ視覚中枢の中で最も大きな神経節であるメダラは約4万個100種類の神経細胞が10層の層構造と800のカラム構造を形成するが、このような神経細胞の多様性がどのようにして産み出され、どのようにして正確な神経回路を作り出されるのか、長い間全く分かっていなかった。ほ乳類の視覚系とハエの視覚系はもちろん異なるが、層構造・カラム構造など類似点が多数存在することから、ハエ視覚系の発生機構を明らかにすることは神経科学における重要なテーマであると言える。同心円ゾーンと神経細胞タイプ

メダラ神経節の多様な神経細胞を正確に作り分けるメカニズムを理解するための第一歩として、我々は発生初期のメダラ前駆体に着目し、幼虫期のメダラ前駆体が進化的に保存された4種類の転写因子(Hth, Bsh, Run, Drf)

によって同心円状に区画化されていることを見出した(図1)⁵⁾。各転写因子の発現パターンを正確に再現するGal4挿入システムを作製し、Gal4制御下でGFPを発現させることで、各転写因子によってラベルされた神経細胞の形態を可視化することができる。このような方法により、転写因子の発現と神経細胞のタイプ、細胞の移動パターン、神経伝達物質の種類が強く相関することが明らかになった⁶⁾。例えば4種の転写因子のうちBsh(マウスホモログはBsxと呼ばれる)はMi1と名付けられたたった1種類のメダラ神経細胞において特異的に発現する。興味深いことに**bsh**変異体においてMi1は全く異なるタイプの神経細胞にトランスフォームし、逆にMi1以外のタイプの神経細胞において**bsh**を強制発現させるとMi1と似たタイプの神経細胞にトランスフォームする⁶⁾。また、Bshが細胞接着因子であるN-cadherin(Ncad)の発現を正に制御することがMi1神経細胞の形態形成において重要であることが示された^{5,6)}。実際には我々が見出した4種の転写以外にも様々な転写因子が同心円状に発現し、それらの組み合わせによって神経細胞の多様性が決定されていると考えられる。

産生順に依存した神経細胞のタイプを決定機構

メダラ前駆体の表層は多数の神経幹細胞で埋め尽くされており、これらが脳の内側に向かって多数の神経細胞を産み出す(図1)。興味深いことに1つ1つの幹細胞が神経細胞を産み出す時、神経細胞が産み出された順番とそのタイプは強く相関する⁷⁾。例えばメダラの神経幹細胞が一番最初に産み出す神経細胞はHth陽性Bsh陰性、次に産み出す神経細胞はHth陽性Bsh陽性、次はRun陽性、その次はDrf陽性となるため、これら転写因子の発現が同心円状に配置されるのである(図1)。このとき転写因子発現と神経細胞のタイプは相関するので、神経細胞の生まれた順

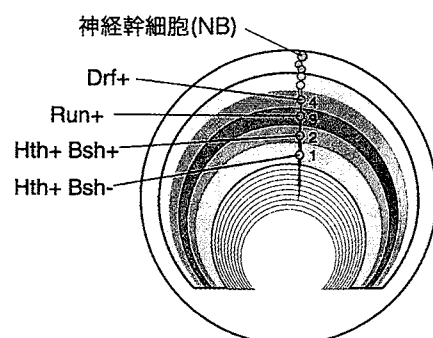


図1. メダラ前駆体における同心円状の転写因子発現

番と神経細胞タイプとは密接に関連していると言える。

神経幹細胞が多様な神経細胞を生み分ける分子機構はショウジョウバエの胚期中枢神経系における解析が進んでおり、体節形成に関わる転写因子群(Hb, Kr, Pdm, Cas)が神経幹細胞において一過的にかつ順番に発現すること、そしてこれら転写因子が幹細胞から産み出される神経細胞のタイプを決定することが知られている⁷⁾。我々はメダラ前駆体においても似たようなメカニズムが存在すること、しかし胚期神経系とは全く異なる転写因子群が関与していることを明らかにした(図2)⁸⁾。メダラ前駆体の神経幹細胞においては進化的に保存された転写因子Hth, Klu, Ey, Slp, Dが一過的にかつ順番に発現し、産生される神経細胞のタイプを次々と決定するのである。同心円ゾーンはこのようなメカニズムによって形成されると考えられる。

由来の異なる神経細胞間の相互作用

脳の形成過程において規則的な神経細胞の移動が重要な役割を果たす。特に哺乳類の大脳皮質など、高度に複雑化した系においては由来の異なる神経細胞が相互作用することが神経細胞の移動のみならず層構造形成・回路形成において重要な意義を持つと考えられるが、その分子メカニズムはよく分かっていない。幼虫期においてメダラ前駆体の表層に位置する神経幹細胞(NB)がメダラの中心に向かって放射方向に多数の神経細胞を産み出す(図1)。一方、メダラ前駆体後方に位置するグリア前駆細胞(GPC)がグリア細胞を産み出すと考えられてきた。我々はGPCはグリアだけでなく少数の神経細胞を産み出

し、これが接線方向に移動することによってメダラの一部を構成することを見出した(図3)。

GPC由来細胞の移動を制御する分子機構を調べるため、GPC由来細胞およびその近傍において発現するガイダンス分子を探索したところ、GPC由来細胞はSlitリガンドを発現し、GPC由来細胞が移動する経路のすぐ外側に位置するNB由来細胞はその受容体であるRobo3を発現することを見出した。逆にNB由来細胞はNetrinBリガンドを発現し、GPC由来細胞はその受容体であるUnc5を発現することがわかった。接線方向に移動するGPC由来神経細胞とその周囲のNB由来神経細胞はRobo/SlitおよびNetrin/Unc5の反発性シグナルによって双方向に作用し合っていると考えられる。実際、これらの因子をノックダウンするとNB由来細胞とGPC由来細胞が混じり合い、GPC由来細胞の移動が阻害された。NB由来細胞とGPC由来細胞が互いに反発し合うことがそれぞれの神経細胞の移動さらには神経回路形成において重要な役割を果たしていると考えられる。

おわりに

ハエの視覚中枢は魅力的なモデル系であるが、その発生機構の研究はまだまだ始まったばかりであり、不明な点が多く残されている。この系を用いて神経発生学の一般的な問題に挑むというのが当研究室の中心課題であるが、将来的には行動実験、カルシウムイメージングを組み合わせるにより、神経回路の発生と機能を統合的に理解するような研究を進めたい。さらに、神経疾患の原因遺伝子の中にはショウジョウバエホモログを持つものが多い。ハエ視覚中枢をモデル系としてこのような遺伝子の働きを明らかにしたいと考えている。

文 献

- 1) Cajal, S. R., Sanchez, D. Contribucion al conocimiento de los centros nerviosos del los insectos. Trab Lab Invest Biol. 13, 1-167 (1915).
- 2) Morgan, T. H., Sturtevant, A. H., Muller, H. J. and Bridges, C. B. The Mechanism of Mendelian Heredity. New York: Henry Holt (1915).
- 3) Takemura, S. *et al.* A visual motion detection circuit suggested by *Drosophila* connectomics. Nature 500, 175-181 (2013).
- 4) Maisak, M. S. *et al.* A directional tuning map of *Drosophila* elementary motion detectors. Nature 500, 212-216 (2013).
- 5) Hasegawa, E., Kitada, Y., Kaido, M., Takayama, R., Awasaki, T., Tabata, T. and Sato, M. Concentric zones, cell migration and neuronal circuits in the *Drosophila* visual center. Development, 138, 983-993 (2011).
- 6) Hasegawa, E., Kaido, M., Takayama, R. and Sato, M. Brain-specific-homeobox is required for the specification of neuronal types in the *Drosophila* optic lobe. Developmental Biology 377, 90-99 (2013).
- 7) Isshiki, T., Pearson, B., Holbrook, S. and Doe, C. Q. *Drosophila* neuroblasts sequentially express transcription factors which specify the temporal identity of their neuronal progeny. Cell 106, 511-521 (2001).
- 8) Suzuki, T., Kaido, M., Takayama, R. and Sato, M. A temporal mechanism that produces neuronal diversity in the *Drosophila* visual center. Developmental Biology 380, 12-24 (2013).
- 9) Sato, M., Suzuki, T. and Nakai, T. Waves of differentiation in the fly visual system. Developmental Biology 380, 1-11 (2013).

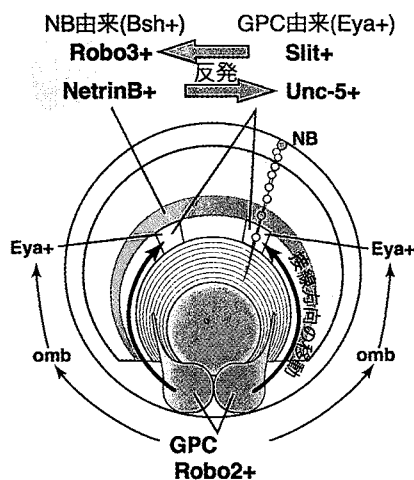
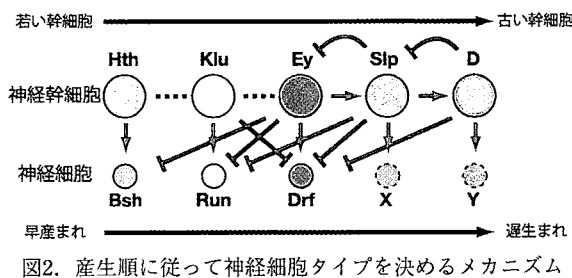


図3. NB由来細胞とGPC由来細胞の相互作用