

脳・神経回路の発生と生理機能の細胞レベル、 遺伝子レベルでの理解を目指して



研究室紹介

Toward understanding the development and functions of the brain
and neural circuits at the single-cell and genetic levels

Key Words : Ascidian, Neuron, Neural circuits

堀江 健生*

はじめに

私たちヒトの脳は約数千億個のニューロンやニューロン間のつながり（神経回路）が作り出す非常に複雑かつ精密なシステムであり、視覚などの感覚や運動、記憶、情動など様々な高次機能を担っています。脳の全体像を理解するためには、脳を構成する細胞一つ一つの成り立ちやその機能を理解することが重要です。しかしながら、ヒトやマウスなどの高等脊椎動物では、脳は膨大な数のニューロンから構成されるため脳の全体像を細胞レベルで完全に理解することは現時点では難しいと思われます。私たちの研究室ではこの問題を解決するために、ホヤという動物を用いて研究を行っています。

ホヤは脊椎動物と同じ脊索動物門に属しており、脊椎動物に最も近縁な海産の無脊椎動物です。変態後のホヤの成体は脊椎動物に似ているとは思えませんが、変態前のホヤの幼生はカエルのオタマジャクシのような形をしています（図1）。

外見だけでなく、脳・神経系も背側に神経管が位置するなど脊椎動物と共通の体制を備えています。その神経系はわずか231個（中枢神経系は177個、末梢神経系は54個）と非常に少数の細胞から構成されています。ヒトの脳が1000億個、ゼブラフィッシュの幼魚の脳が100万個の細胞から構成され

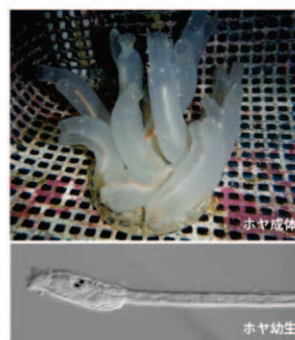


図1 ホヤの成体と幼生

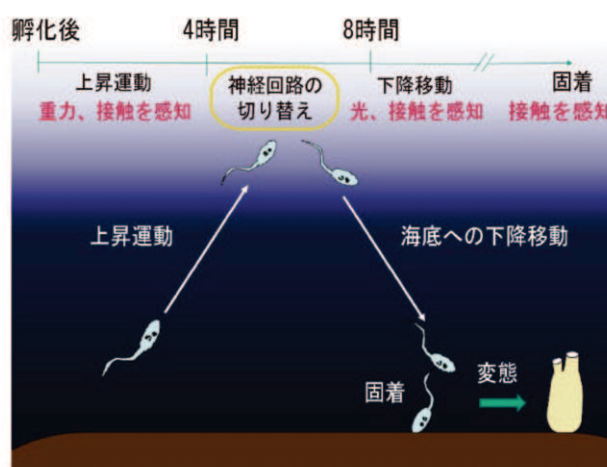


図2 孵化後の時間に伴ったホヤ幼生の行動変化

ていることと比較すると、いかにホヤ幼生の脳がシンプルであるかを理解していただけたと思います。ホヤ幼生はたった231個のニューロンから構築される神経回路を駆使して、重力、光、接触刺激などの環境刺激を受容し、それぞれの環境刺激に適した行動を選択し、自身が一生を過ごす場所を探し求めて遊泳運動を行います（図2）。

孵化直後の幼生は重力と接触刺激により上昇運動を行い、孵化後4時間目から8時間目に光に対して忌避応答を示し、孵化直後とは一転して海底へ向



* Takeo HORIE

1978年10月生まれ
姫路工業大学大学院 理学研究科 生命科学専攻 博士後期課程単位取得後退学
(2007年)

現在、大阪大学 大学院生命機能研究科
脳神経工学講座1細胞神経生物学研究室
教授 博士(理学)

専門/神経生物学、ゲノム生物学

TEL : 06-6105-5247

FAX : 06-6878-9712

E-mail : horie.takeo.fbs@osaka-u.ac.jp

かって遊泳運動を行います。孵化後8時間目以降に幼生が海底などに固着すると、固着刺激（接触刺激）がトリガーとなり変態を開始し、幼生から成体へと大きく体制を変化させます。成体は幼生期に固着した場所で一生を過ごします。このようにホヤ幼生は孵化後の時間に伴って、重力・光・接触刺激の各外部環境に応答する神経回路を構築し、時間とともに応答する神経回路を変化させていきます。

私たちの研究室では、ホヤ幼生の神経系をモデルとして研究を行うことで、脳・神経系の発生から生理機能までの全貌を細胞レベル、遺伝子レベルで解明することを目指して研究を進めています。その内容は、「ニューロンにおける遺伝子発現調節機構に関する研究」、「ニューロンの分化機構に関する研究」、「神経回路の構造に関する研究」、「神経回路の生理機能に関する研究」など、遺伝子レベルから個体レベルまで様々な階層に渡ります。本稿では、これまで私たちが明らかにしてきたホヤ幼生の脳・神経系の発生と生理機能について紹介します。

脳神経回路とその生理機能に関する研究

ここまで、ホヤの中樞神経系はシンプルであると紹介しましたが、私たちが研究を始めた 2000 年代前半は、ホヤ幼生の中樞神経系にどのような種類のニューロンが存在しているのかは全く分かっていませんでした。そこで私たちは、ニューロンが利用する神経伝達物質や特定のニューロンで機能するタンパク質に着目し、ホヤ幼生の中樞神経系にどのような種類のニューロンが存在しているのかを詳細に記載するという研究を行いました。そして、形態学的な記載から各ニューロンの機能を予測するといった研究を行い、「光や重力、接触刺激などの外部環境刺激を受容する神経回路」や「リズムカルな遊泳運動に関連する神経回路」を明らかにしてきました。このうち「リズムカルな遊泳運動に関連する神経回路」について簡単にご紹介します。ホヤ幼生の遊泳運動神経回路は 5 対 10 個のコリン作動性のモーターニューロンと 2 対 4 個の抑制性介在ニューロンのわずか 14 個のニューロンにより構成されています(図 3)。

5対10個のコリン作動性ニューロンはそれぞれ異なる転写因子を発現することから、これらの転写因子のエンハンサー領域を利用することにより、単

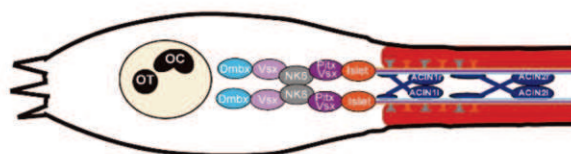


図3 ホヤの成体の游泳運動神経回路

—細胞レベルで外来遺伝子を発現させることが可能です。私たちは、光遺伝学なツールを用いて個々のモーターニューロンの機能を人為的に操作することで、単一細胞レベルでの遊泳運動神経回路の機能解析に取り組みました。その結果、最も後方に位置する *Islet* を発現する細胞が遊泳運動を行う際に強く発火すること、その活動を人為的に活性化すると遊泳運動が引き起こされること、遊泳運動中の個体において *Islet* 発現細胞の機能を抑制すると遊泳運動が停止することを明らかにし、*Islet* 発現細胞が遊泳運動に必須の役割をすることを明らかにしました。現在は、遊泳運動神経回路を構成する個々のニューロンがどのように協調してリズムカルな遊泳運動を作り出すのかについて研究を行っています。

ニューロンの分化機構に関する研究

各ニューロンの発生や機能を知るためには個々のニューロンで発現している遺伝子の情報を知ることが非常に重要です。このような研究に有用な手法が単一細胞トランスクリプトーム解析という手法です。この手法は、個々の細胞で発現する遺伝子の情報を網羅的に得ることが出来る画期的な手法です。私たちは世界に先駆けて単一細胞トランスクリプトーム解析をホヤの研究に取り入れ、さらに脳・神経系の発生や生理機能研究へと応用することに取り組んできました。

単一細胞トランスクリプトーム解析の結果から、ホヤ幼生に存在する 231 個のニューロンは 25 種類に分類出来ることが分かりました。このうち、私たちはドーパミンニューロンに着目して研究を行いました。ドーパミンニューロンは情動行動や運動調節、恒常性の維持などに必須の役割をすることが知られています。ヒトではドーパミンニューロンが欠損するとパーキンソン病が引き起こされることが知られており、ドーパミンニューロンは医学的にも生物学的にも非常に重要なニューロンです。単一細胞トラ

ンスクリプトーム解析の結果をもとに、ホヤ幼生のドーパミンニューロンで発現する遺伝子を網羅的に調べたところ、遺伝子発現のスイッチ役である転写因子 *Ptf1a* がドーパミンニューロンで特異的に発現していることを明らかにしました。*Ptf1a* の機能を阻害したところ、ドーパミンニューロンは完全に欠損し、*Ptf1a* を異所的に発現させるとドーパミンニューロンを異所的に分化させることが出来ました (図 4)。

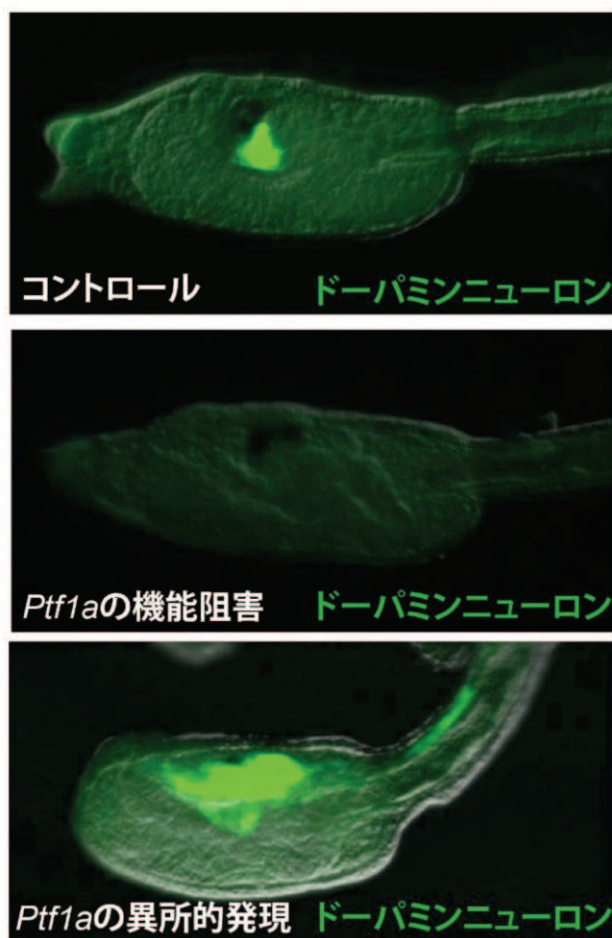


図 4 *Ptf1a* はドーパミンニューロンの分化に必須の役割をする

Ptf1a を過剰発現させた個体において単一細胞トランスクリプトーム解析を行うことで *Ptf1a* と共役して働く転写因子として *Meis* を同定し、*Ptf1a* と *Meis* の共発現により中枢神経系の全ての細胞をドーパミンニューロンへと変換することに成功しました。つまり、ドーパミンニューロンの分化を人為的に誘導することが出来る転写因子の組み合わせ (転写因子カクテル) を明らかにしました。現在は、ド

ーパミンニューロンだけでなく様々なニューロンについて分化を誘導することが可能な転写因子カクテルの同定に取り組んでいます。

おわりに

単一細胞トランスクリプトーム解析という新しい手法の導入により、私たちの研究は真に 1 細胞レベルで脳・神経系を理解することが可能なところまで進んでいます。今後は、マウスをはじめとする脊椎動物へと研究対象を広げ、ホヤの研究に留まることなく、ホヤの研究を通して、脊椎動物の脳やヒトの脳の理解につながるような研究を展開したいと考えています。

脳・神経系は動物の進化にともなって最も複雑に変化した器官の 1 つであり、その形態や機能は種の存続においても多大な影響を与えてきたと考えられています。つまり、進化の過程で脳・神経系がどのように変化してきたかを解明することは、生物そのものの進化を理解する上で重要です。私たちはホヤ、そして様々な動物の脳・神経系の研究を通して、脳・神経系の普遍性と多様性を生み出す進化機構を解明したいと考えています。

私たちの研究の社会への波及効果としては、医療分野では遺伝子・細胞レベルでの神経回路研究につなげたいと考えています。具体的には、脳深部特異的な遺伝子/プロモーターの同定による回路選択的な脳深部刺激の開発や iPS 細胞やオルガノイドを用いた神経細胞の分化誘導による、神経回路を修復する再生医療の研究への波及効果があると考えています。これらの成果は、将来的に医学分野への臨床応用につながると期待されます。次に、工学分野では、今後はサーバーを介さず、現場で高度な演算を行うエッジコンピューティングが普及する社会が到来します。このような社会では、サーバー等を解さずに現場でリアルタイムで演算を行い、自律的に判断し、しかも超低消費電力で動き・ノイズ/障害に強い人工知能が求められます。すなわち、より生物らしい自律的なシステムが必要とされます。このような要請には、生物から学んだ機械学習アルゴリズムに大きな利点があると考えています。このように今後は、大阪大学生命機能研究科において、理学分野、医学分野、工学分野にまたがった研究を展開していきたい所存です。