

バーチャルリアリティモデルによる行動可塑性の分子細胞基盤の解明

首都大学東京 理工学研究科 生命科学 細胞遺伝学研究室
坂井 貴臣

1. はじめに

【目的】

動物がある経験(条件付け)に基づき新たな行動パターンを獲得(学習)する行動可塑性現象には脳機能を変化させる機構(脳の可塑性)の関与が予想される。それを直接的に証明するには、条件付けの最中に脳神経系における神経活動や分子の挙動をリアルタイムでモニターする実験系の確立が不可欠である。本研究課題ではショウジョウバエで確立された「求愛条件付け」による行動可塑性現象に注目し、行動可塑性のバーチャルリアリティモデルを創出する。このモデルにより顕微鏡下でハエを固定したまま条件付けが可能となるので、Ca²⁺イメージングを利用して行動可塑性を獲得する際に脳神経回路で起こる変化を分子・細胞レベルでリアルタイムに解析し、行動可塑性の分子細胞基盤を明らかにする。

【なぜバーチャルリアリティモデルが必要なのか？】

従来の行動可塑性研究では、遺伝子をノックアウトした形質転換モデル動物を用い、様々な条件付けを利用した行動学的解析によって脳神経可塑性にかかわる遺伝子が推定されてきた。しかし、条件付けを介して新規行動を獲得する際の脳神経可塑性のメカニズムを直接的に証明するためには、条件付けの最中に脳神経系における神経活動や分子の挙動をリアルタイムでモニターする実験系の確立が不可欠である。代表者はこれまでに、「求愛条件付け」による行動可塑性に関与する遺伝子を同定してきた。しかし、ショウジョウバエは体長が非常に小さいので行動を観察しながら脳神経系の活動をモニターすることが技術的に難しく、行動学的解析に偏った研究を強いられてきた。これらの問題を解決するため、「求愛条件付け」を行うことなく、それと同等の効果を得るためのバーチャルリアリティモデルの着想に至った。

2. 方法

【背景】

ショウジョウバエでは、古くから「求愛条件付け」という条件付けによる行動可塑性現象が知られている。ショウジョウバエの未交尾メスは「性フェロモン」を分泌し、オスがそれを受容すると求愛を開始する。一方、交尾したメスは「性フェロモン」と共に「求愛抑制匂い物質」を分泌する。「求愛抑制匂い物質」はオスにとって不快な匂い物質であり、通常オスはこの匂い物質に対して忌避行動を示す。交尾したメスとオスを観察容器の中に入ると、オスは「性フェロモン」と「求愛抑制匂い物質」の両方を受容し、求愛開始、中断を何度も繰り返す。1時間条件付けしたオスは、その後、未交尾メスと遭遇してもあまり求愛しなくなり(求愛抑制)、この求愛抑制現象は約4時間持続する。また、7時間以上条件付けしたオスは1週間近く求愛抑制が持続する。

ショウジョウバエでは、「性フェロモン」と「求愛抑制匂い物質」を受容する神経細胞がすでに同定されている。また、狙った特定の神経細胞を人為的に興奮させる技術も確立されている。オスの「性フェロモン」の受容細胞と「求愛抑制匂い物質」の受容細胞を人為的に興奮させることができれば、「性フェロモン」と「求愛抑制匂い物質」を受容していると錯覚し、交尾したメスに求愛した時と同じような現象が起きるはずである。この実験系を確立できれば、オスを「交尾したメス」に求愛させることなく「求愛条件付け」を実現できる。

【方法】

神経細胞を興奮させる遺伝学的なツールとして以下の2種類を用いた：(1) NaChbac, バクテリアで同定されたナトリウムチャネル, (2) TRPA1, ショウジョウバエで発見された温度感受性カルシウムチャネル。TRPA1チャネルは25°Cから 30°Cに温度をシフトすることによって活性化され、発現している神経細胞を興奮させることができる。オスの「性フェロモン」の受容細胞と「求愛抑制匂い物質」の受容細胞にNaChBacもしくはTRPA1チャネルを発現させた形質転換バエを作製し、それぞれの神経細胞を人為的に興奮させてオスの求愛活性を測定した。

3. 結果 研究成果

【結果1】

オスの性フェロモン受容体の発現している神経細胞にNaChBacを発現させた形質転換バエでは、対照群と比較すると有意に求愛活性が上昇した。これらの結果から、オスの性フェロモン受容体の発現している神経細胞を活性化するとオスの求愛活性が上昇することが明らかとなった。

【結果2】

オスの求愛抑制匂い物質受容体の発現している神経細胞にNaChBacを発現させた形質転換バエでは、対照群と比較すると有意に求愛活性が低下した。これらの結果から、オスの求愛抑制匂い物質受容体の発現している神経細胞を活性化するとオスの求愛活性が低下することが明らかとなった。

【結果3】

オスの求愛抑制匂い物質受容体の発現している神経細胞にTRPA1を発現させた形質転換バエを作成した。しかし、対照群のオスにおいて、温度シフトにより求愛活性が低下したため、神経活動と求愛活性の評価を行うことができなかった。

【結果4】

バーチャルリアリティモデルが完成した後は、条件付けの最中に脳神経活動にどのような変化が生じるのかを測定する必要がある。そこで、蛍光Ca²⁺センサー(G-CaMP)を利用して細胞活動を可視化するために必要な機器のセットアップ(蛍光顕微鏡と冷却CCDカメラ)を行い、野生型の記憶中枢(キノコ体)から神経活動依存的なCa²⁺応答を測定できる実験系を確立した。

4. 考察 まとめ

NaChBacを用いた場合、性フェロモン受容体の活性化により求愛活性が上昇し、求愛抑制匂い物質受容体の活性化により求愛活性が低下したため、申請者の仮説は正しいことが証明された。しかし、NaChBacを用いた方法では、神経細胞を興奮させるタイミングを制御することができないので、バーチャルリアリティモデルの確立には適していない。TRPA1チャンネルは温度シフトしたときのみターゲットニューロンを興奮させることができるので、バーチャルリアリティモデルに利用することを期待していたが、求愛活性自身が温度の影響を受けることが判明したため本研究には適さないことが明らかとなった。今後は光照射により神経細胞を人為的に興奮させることができるチャンネルロドプシンを利用してバーチャルリアリティモデルの確立を目指す予定である。

5. 発表論文、参考文献

なし