

2021年12月13日

報道関係者各位

慶應義塾大学
甲南大学
筑波大学

頸（うなじ）の中に潜む操縦士を発見！

— わずか1対の神経細胞がホヤ胚の自律的な運動を司令する —

慶應義塾大学大学院理工学研究科の赤星太一（博士3年）、同大学理工学部の内海円花（学部4年）、岡浩太郎教授、堀田耕司准教授らは、甲南大学理工学部・統合ニューロバイオロジー研究所の日下部岳広教授、大沼耕平（博士研究員）、村上誠（学部卒業生）、および筑波大学生命環境系下田臨海実験センターの堀江健生助教らとの共同研究で、ホヤの発生初期のリズミカルな自発運動はわずか1対の運動神経細胞により制御されることを明らかにしました。魚類・両生類などの脊椎動物の胚は遊泳前の発生の早い段階で自発運動がみられます。この自発運動は脊髄にある神経細胞群のリズミカルな神経活動により生じることが示唆されていますが、いつ、どのようにして獲得されるのかは謎でした。本研究では脊椎動物に最も近縁であり、細胞系譜^{*1}や幼生期における神経接続情報がわかっているカタユウレイボヤを用いこの謎に挑戦しました。その結果、カタユウレイボヤ幼生の脊髄に相当する領域で1対の運動神経細胞 MN2 が数十秒周期の初期の運動リズムを生み出すのに必要十分であり、MN2 の膜電位変化が尾の筋収縮に対応するようになることを世界で初めて明らかにしました。運動神経細胞 MN2 は遊泳期において左右交互に尾を振る運動をうみだす神経回路（中枢パターン生成器, CPG）の重要な構成因子であると考えられ、本研究成果は動物が一般にもつ遊泳や歩行などの自律的でリズミカルな運動をうみだす神経回路の発生の解明に寄与する重要な発見といえます。研究成果は、2021年12月10日（米国東部時間）に『*Science Advances*』にオンライン掲載されました。

1. 研究の背景

ゼブラフィッシュやアフリカツメガエルなどの脊椎動物は遊泳前の初期発生段階で自発運動をすることが知られています。この自発運動は脊髄に位置する神経回路が担うと考えられていますが、いつ、どのような細胞によって生じるのか特定されていませんでした。

そこでこの問題を解決するために本研究グループはホヤを用いました。ホヤの1種であるカタユウレイボヤは幼生までの細胞系譜が明らかにされており、構成する細胞数が驚くほど少なく、幼生の神経接続も明らかにされています。また近年、脊椎動物と類似した神経回路を持つことがわかり、カタユウレイボヤは神経科学のモデル生物となりつつあります。カタユウレイボヤの幼生も脊椎動物のカエルと同じオタマジャクシ型をしており、左右に尾を振って遊泳運動をします。

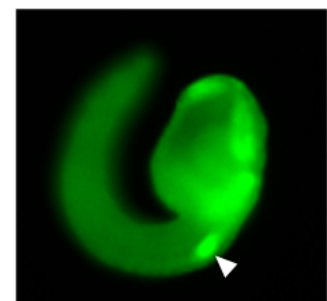


図1 ホヤ胚の Ca²⁺振動位置

本研究グループはこれまでに発生中のホヤ胚の網羅的 Ca^{2+} イメージングをおこない、胚発生中の様々な細胞における Ca^{2+} 動態を明らかにしました。このうち後脳～脊髄に相当する領域において数十秒周期で規則的に Ca^{2+} 振動が生じる場所があることを見出しました（図 1、矢じり）[参考文献 1]。本研究ではこの Ca^{2+} 振動細胞に着目し、神経活動と遊泳期前に生じる自発運動との関係についてさまざまなイメージング手法を用いて詳細に解析しました。

2. 研究の概要

まず Ca^{2+} 振動がいくつの細胞から生じているのか知るため、 Ca^{2+} センサー GCaMP6s を用いてライブイメージングをおこないました。その結果、発生ステージ 20 以降、 Ca^{2+} 振動はわずか左右 1 対の細胞から生じるとわかりました。この Ca^{2+} 振動を後期のステージ 23 まで観察したところ、 Ca^{2+} 振動はやがて同側の尾の筋収縮と同期することがわかりました。また光変換蛍光タンパク質 *Kaede* を用いた細胞系譜追跡をおこなったところ、 Ca^{2+} 振動細胞は細胞系譜 A10.64 に相当する MN2 と呼ばれる運動神経細胞であることがわかりました。さらに、驚くべきことに MN2 神経細胞は単離しても数十秒周期で自律的な神経活動のリズムを刻むことがわかりました（図 2）。

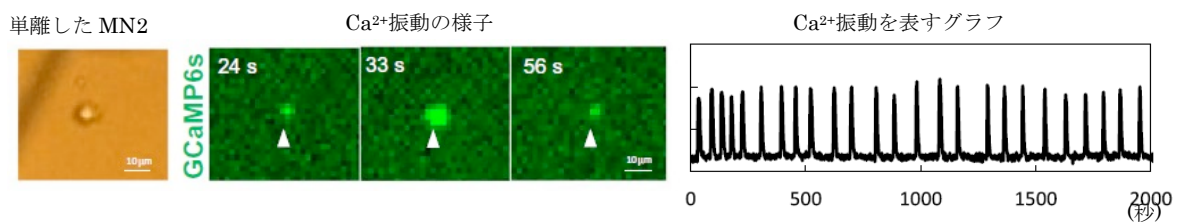


図 2 単離してもみずから数十秒周期でリズムを刻む MN2 運動神経細胞

次にこの Ca^{2+} 振動は神経活動によるものと考えられるので Ca^{2+} 振動と同時に膜電位の変化を膜電位センサー ASAP2f により計測しました。その結果、数十秒周期の Ca^{2+} 振動に伴い、膜電位のバースト^{※2} 発火が観察されました。さらに自発運動と膜電位の関係を調べると、同側の尾の 1 度の筋収縮は後期尾芽胚期（ステージ 24）において、MN2 の膜電位バースト内の個々のスパイク^{※3} に対応し収縮することがわかりました。最後に光遺伝学的手法を用い *miniSOG2* による MN2 特異的細胞破壊および、*ChR2* による MN2 特異的細胞刺激実験をそれぞれ行い、MN2 の神経活動は尾の自発運動に必要な十分であることを示しました。

以上より、1 対の運動神経細胞 MN2 が初期の運動リズムをうみだし、ホヤ遊泳期前の自発運動を直接制御することが明らかになりました（図 3）。

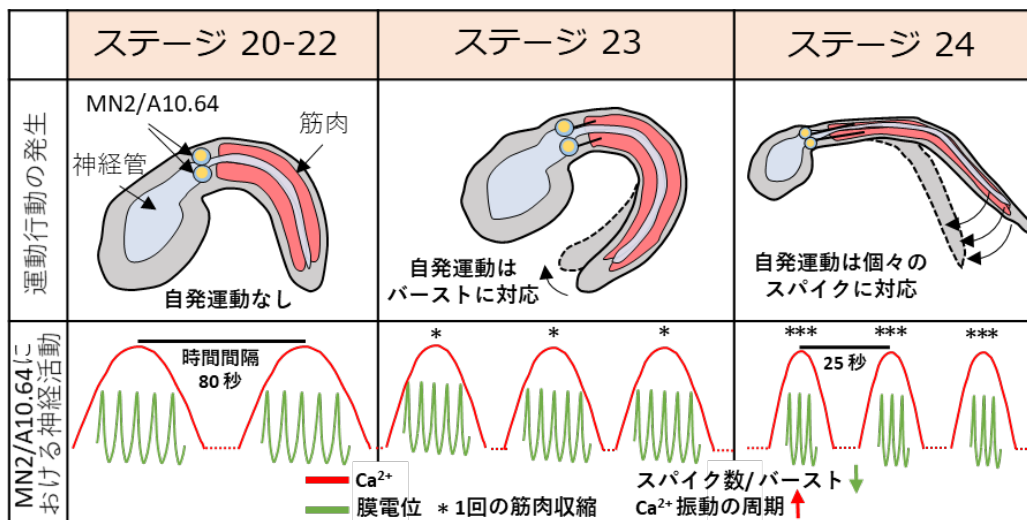


図3 ホヤ初期発生胚における自発運動生成過程のまとめ
 ステージ22まではMN2は筋肉へ司令しないが約80秒周期の神経活動はみられる。ステージ23になるとMN2膜電位(緑)の周期的なバーストごとに同側の筋収縮(*)がみられるようになる。ステージ24以降はバースト内のスパイクが筋収縮に対応するようになる。

3. 今後の展望

ホヤの発生初期の運動回路は左右のMN2運動神経細胞がそれぞれ同側の尾の筋肉を収縮させるリズムをうみだし制御していると考えられます(図4左側の図)。一方、遊泳幼生期の運動神経回路はMN2を含む5対の運動神経細胞と抑制性の交連神経細胞(ACIN)等から構成される運動神経回路となり、左右交互にリズムカルに尾を振る遊泳運動が可能になると考えられています。このような運動のリズミカルなパターンを自律的にうみだす神経回路のことを中枢パターン生成器(CPG)と呼びますが、脊椎動物のCPGの発生機構は未解明です。

今回見つかったMN2は遊泳幼生期においても約20秒周期でリズムを刻むことが本研究からわかりました。MN2は遊泳幼生においてもCPGのキープレイヤーである可能性が高く、CPG発生機構解明へ今後の研究の進展が期待されます。

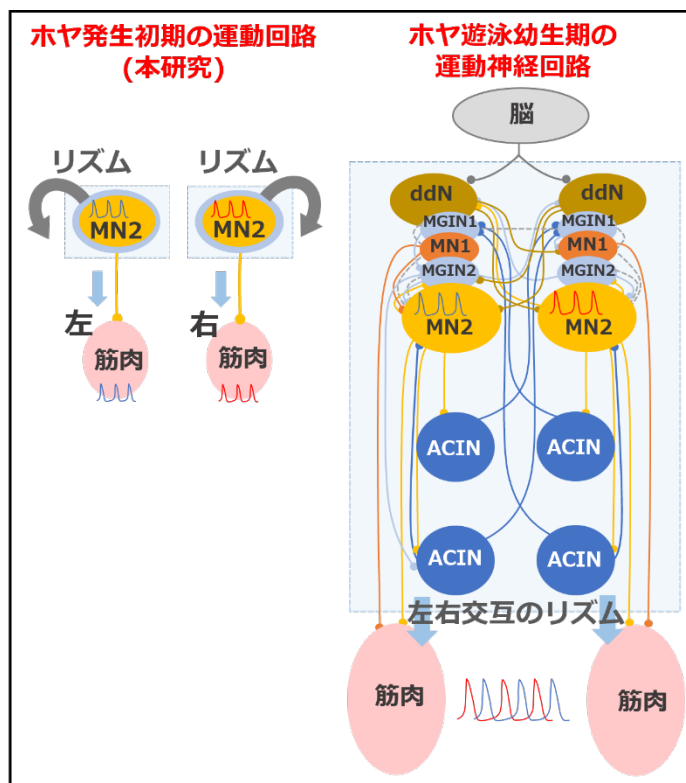


図4 ホヤ運動神経回路の発生

4. 今後の展開

本研究は、以下の研究助成の支援を受けて実施されました。

- ・ JSPS 科研費： 16H01451, 16K07426, 21H00440, 19J21665, 19H03213, 17K15130, 19H03204, 21H05239
- ・ 慶應義塾大学 学事振興資金
- ・ 慶應義塾大学 博士課程学生研究支援プログラム
- ・ 甲南学園平生太郎基金 科学研究奨励助成
- ・ 公益財団法人東レ科学振興会 東レ科学技術研究助成
- ・ 公益財団法人武田科学振興財団 ライフサイエンス研究助成
- ・ 公益財団法人持田記念医学薬学振興財団 研究助成
- ・ 公益財団法人日本科学協会 笹川科学研究助成

また、本研究で用いたホヤ（カタユウレイボヤ）は、文部科学省ナショナルバイオリソースプロジェクト（NBRP）から提供を受けました。

5. 論文

【題名】 A single motor neuron determines the rhythm of early motor behavior in *Ciona*.

（ホヤの初期運動行動のリズムは単一運動神経細胞により決定される）

【著者名】 Taichi Akahoshi（赤星太一）¹, Madoka K. Utsumi（内海円花）¹, Kouhei Oonuma（大沼耕平）², Makoto Murakami（村上誠）², Takeo Horie（堀江健生）³, Takehiro G. Kusakabe（日下部岳広）², Kotaro Oka（岡浩太郎）¹ and Kohji Hotta（堀田耕司）^{1*}

1. 慶應義塾大学理工学部生命情報学科
 2. 甲南大学理工学部生物学科・統合ニューロバイオロジー研究所
 3. 筑波大学生命環境系下田臨海実験センター
- * 責任著者

【掲載紙】 *Science Advances*

【掲載日】 2021年12月10日

【DOI】 <https://science.org/doi/10.1126/sciadv.abl6053>

6. 参考文献

[参考文献 1] T. Akahoshi, K. Hotta*, K. Oka, Characterization of calcium transients during early embryogenesis in ascidians *Ciona robusta* (*Ciona intestinalis* type A) and *Ciona savignyi*. *Dev. Biol.* 431, 205–214 (2017).

<用語説明>

※1 細胞系譜：細胞がどのように分裂して将来どのような細胞になるかを記したもの。

※2 バースト：1つのまとまった時間に複数の連続的な神経発火がみられること

※3 スパイク：1回の神経発火のこと

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、各社科学部等に送信させていただいております。

・ 研究内容についてのお問い合わせ先

慶應義塾大学 理工学部 生命情報学科 准教授 堀田耕司（ほったこうじ）

TEL : 045-566-1700 FAX : 045-566-1789 E-mail : khotta@bio.keio.ac.jp

・本リリースの配信元

慶應義塾広報室（澤野）

TEL : 03-5427-1541 FAX : 03-5441-7640

Email : m-pr@adst.keio.ac.jp <https://www.keio.ac.jp/>

甲南学園広報部

TEL : 078-435-2314 Email : kouhou@adm.konan-u.ac.jp

筑波大学広報室

TEL : 029-853-2040 FAX : 029-853-2014 E-mail : kohositu@un.tsukuba.ac.jp