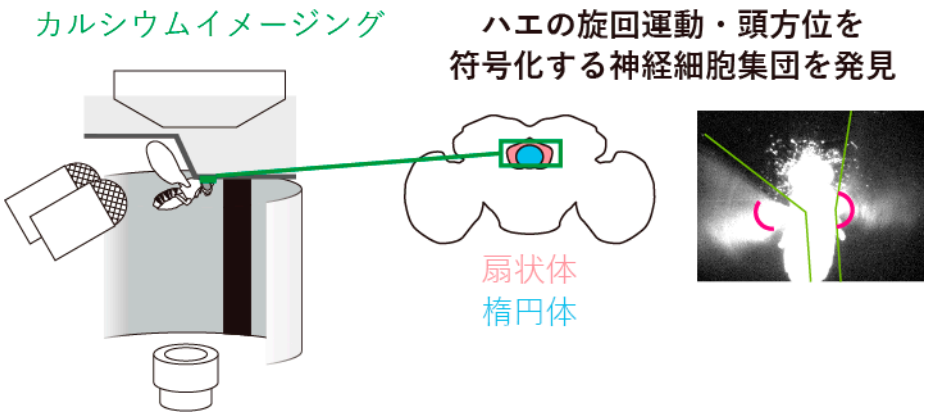
149　空間知覚を司る神経回路の動作機構	塩崎　博史

【目的】昆虫を含む多くの動物は、自分が今どの方向を向いているかを知覚することで、環境を効率的に移動する。神経生理学的研究により、動物が特定の方向を向いている際に活動する頭方位細胞が発見されたが、脳内に散在する頭方位細胞がどのようなネットワークを形成し、動作しているかは不明である。本研究では、細胞種特異的な神経ネットワークの解析が容易なキイロショウジョウバエに着目し、著者がこれまでに構築したバーチャルリアリティ技術と生理学的計測を組み合わせた実験系を用いることで、方向感覚を担う脳神経回路の機能と構造を明らかにすることを目的とした。

【方法】遺伝学的手法を用いて、特定の神経細胞集団にカルシウム指示タンパク質を発現させた。2 光子カルシウムイメージング法を用いて、仮想空間を飛行中のハエから神経活動を記録した。

【結果】過去に発見された頭方位細胞ネットワークの下流に、もう一つ別の頭方位細胞ネットワークが存在すること発見した。これら 2 つのネットワークは同期して活動し、ともにハエの旋回運動および頭方位を符号化していたが、下流のネットワークのみが視覚環境依存的に旋回運動符号を変化させた。以上の結果により、ショウジョウバエの空間知覚を担う神経回路機構の一端が解明された。

飛行するショウジョウバエの神経活動を記録し、方向感覚に関わる神経回路を解析



149. 空間知覚を司る神経回路の動作機構

塩崎　博史

*理化学研究所 脳科学総合研究センター

Key words：ショウジョウバエ，ナビゲーション，感覚運動統合，視覚，飛行

緒　言

昆虫を含む多くの動物は、自分が今どの方向を向いているかを知覚することで、環境を効率的に移動する。神経生理学的解析により、動物が特定の方向を向いている際に活動する頭方位細胞が発見されたが、脳内に散在する頭方位細胞がどのようなネットワークを形成し、動作しているかは不明である。本研究では、細胞種特異的な神経ネットワークの解析が容易なキイロショウジョウバエに着目し、著者がこれまでに構築したバーチャルリアリティ技術と生理学的計測を組み合わせた実験系［1］を用いることで、方向感覚を担う脳神経回路の機能と構造を明らかにすることを目的とした。まず、遺伝学的手法を用いて、特定の神経細胞集団にカルシウム指示タンパク質を発現させた。次に、2 光子カルシウムイメージング法を用いて、仮想空間を飛行中のハエから神経活動を記録した。その結果、過去に発見された頭方位細胞ネットワーク［2〜5］の下流に、もう一つ別の頭方位細胞ネットワークが存在すること発見した。これら 2 つのネットワークは同期して活動し、ともにハエの旋回運動および頭方位を符号化していたが、下流のネットワークのみが視覚環境依存的に旋回運動符号を変化させた。以上の結果により、ショウジョウバエの空間知覚を担う神経回路機構の一端が解明された。

方　法

1.　ハエ

実験には羽化後 2、3 日齢のキイロショウジョウバエのメスを用いた。遺伝学的手法を用いて、特定の神経細胞集団にカルシウム指示タンパク質（*GCaMP6f*）を発現させた。

2.　バーチャルリアリティ

ハエの胸部の一部を、カルシウムイメージング用プレートに固定し、顕微鏡下に設置した。発光ダイオード（LED）で構成した視覚刺激呈示装置を、ハエを取り囲むように配置した。プレート下において、ハエは胸部を固定されているものの、飛行するときと同じように翅を動かすことができる。この翅の動きにより生じる音から、旋回しようとしている方向をリアルタイムで推定し、その推定値にもとづき視覚環境を水平方向に動かすことにより、あたかも仮想的な空間を旋回しているかのような状況をつくりだした。

3.　2 光子カルシウムイメージング

ハエをカルシウムイメージング用プレートに固定した状態で、頭部のクチクラの一部を除去し、顕微鏡で脳を観察できるようにした。ハエが仮想空間を飛行している最中に、2 光子カルシウムイメージング法を用いて、神経活動を記録した。

*現在の所属：理化学研究所 脳神経科学研究センター

結　果

1. 扇状体のコラム神経細胞集団は、飛行中に環状ダイナミクスを示す

先行研究により、楕円体と呼ばれる脳領域に樹状突起・軸索を持つ神経細胞集団が、ハエの頭方位を符号化することが知られていた［2〜5］が、その下流の脳領域である扇状体の生理学的性質については不明な点が多かった。そこで、すべての神経細胞にカルシウム指示タンパク質を発現させた遺伝子組換えハエを作製し、仮想空間を飛行するハエの扇状体から活動を記録した（図 1a〜c）。その結果、扇状体の中央を通る面において、一部の領域が高いカルシウム活動を示すこと、高いカルシウム活動を示す場所が時間とともに移動することを見出した（図 1d）。クラスタリング解析により、同期して活動するピクセルを抽出したところ、扇状体の中央面に 8 つのコラム状の機能クラスターが存在することが示唆された（図 1e）。これら機能コラムの活動を解析したところ、近接するコラムが同期して活動していたこと、さらに扇状体の両端に存在するコラムも同期して活動していたことが明らかとなった（図 1f）。この結果は、扇状体のコラム集団は全体として環状の機能的構造（環状ダイナミクス）を示すことを示唆する。

さらなる実験により、環状ダイナミクスは視覚入力なしに生じること、扇状体にコラム状の樹状突起・軸索を持つ神経細胞集団（コラム細胞集団）が環状ダイナミクスを示すこと、ハエが飛行をやめると環状ダイナミクスが減弱することを見出した。以上の結果は、扇状体のコラム細胞集団が示す環状ダイナミクスが、飛行に関わる情報を符号化することを示唆する。

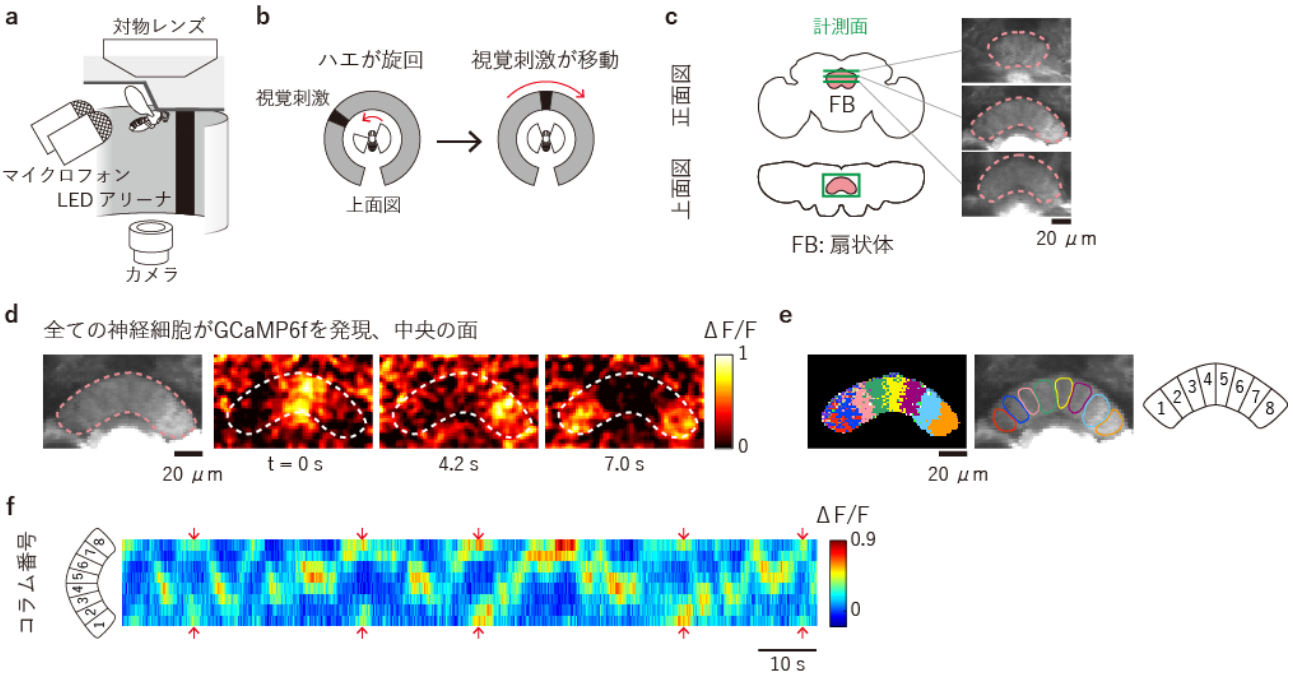


図 1. 扇状体のコラムニューロン集団は、飛行中に環状ダイナミクスを示す

a) 実験セットアップ。

b) バーチャルリアリティ。

c) 左、脳と扇状体の模式図。右、扇状体から記録したカルシウム信号。

d) 扇状体から記録したカルシウム信号ダイナミクスの例。

e) クラスタリング解析により明らかとなった、8 つの機能クラスター（コラム）。

f) 各コラムにおけるカルシウム信号の時系列。両端のコラム（コラム 1 とコラム 8）が同期して活動していた（赤矢印）。

2. 環状ダイナミクスは旋回運動および頭方位を符号化する

扇状体のコラム細胞集団が示す環状ダイナミクスが、飛行に関わるどのような情報を符号化しているかを解析した。ハエの旋回運動（図 2a）と、コラム細胞の一種である P-F-R 細胞のカルシウム活動を比較したところ、旋回運動に応じてカルシウム活動を変化させたコラムがあった（図 2b）。この結果は、旋回運動に応じて P-F-R 細胞の集団としての活動が変化していることを示唆する。この仮説を検証するため、細胞集団の活動を集団ベクトル（population vector、PV）として表現した。PV は、各コラムを表すベクトルに、各コラムのカルシウム活動を掛けて足し合わせたものとして定義した（図 2c）。PV の角度はどのコラムが強い活動を示すかを、PV の速度は、コラム集団の活動のピークがどちらの向きにどの程度の速さで変化するかを表す。PV の角度・速度と旋回運動との関係を解析したところ、角度・速度ともに、旋回運動に応じて変化していたことが明らかとなった（図 2d～g）。この結果は、旋回運動が扇状体のコラム細胞集団が示す環状ダイナミクスの複数の特徴により符号化されていることを示唆する。さらなる解析により、扇状体のコラム細胞集団が示す環状ダイナミクスは、旋回運動に加え頭方位も符号化していたことがわかった。

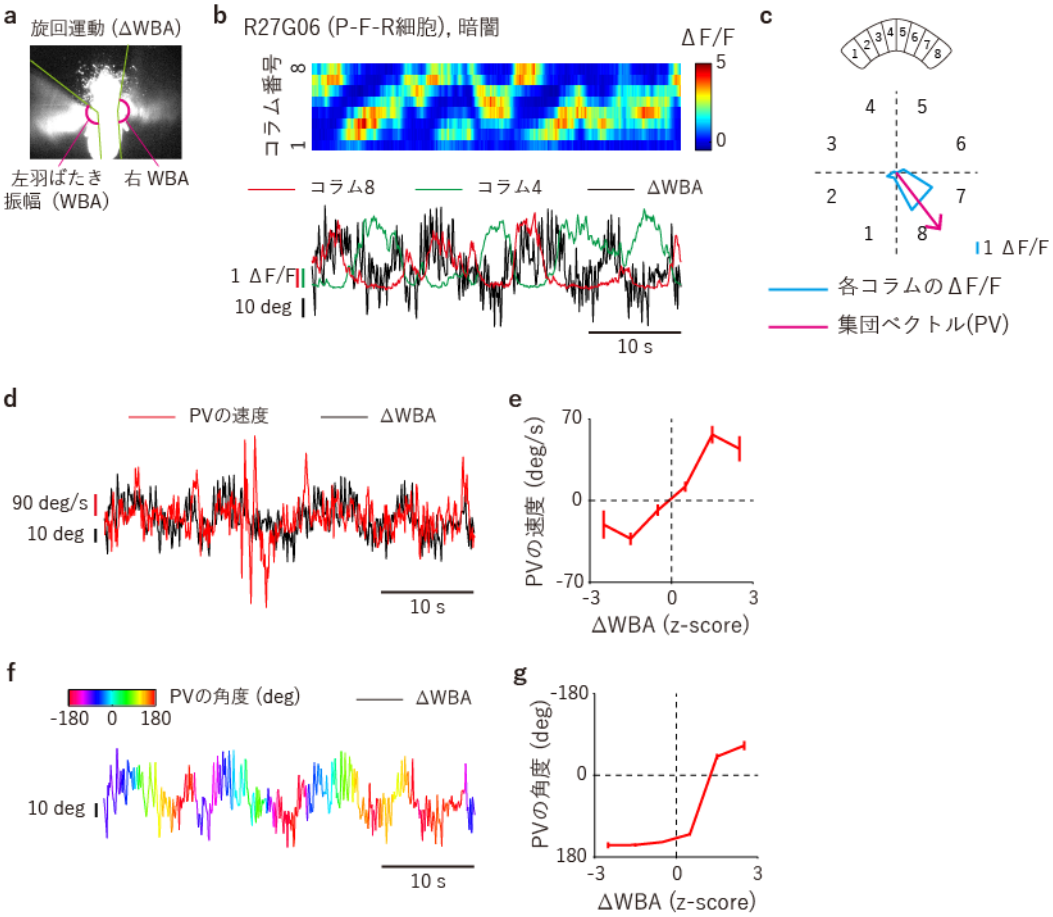


図 2. 環状ダイナミクスは旋回運動および頭方位を符号化する

a) ハエの旋回運動の定量化。

b) ドライバーライン R27G06 で標識された P-F-R 細胞集団のカルシウム活動と旋回運動。

c) 集団ベクトル（PV）の例。

d) PV の速度と旋回運動の例。グラフは、b)で示したデータから計算した。

e) PV の速度と旋回運動との関係。図を作製するために、旋回運動の時系列を PV の速度の時系列に対して 0.17 秒遅らせた。

f) PV の角度と旋回運動の例。グラフは、b)で示したデータから計算した。PV の角度と旋回運動との関係。図を作製するために、旋回運動の時系列を PV の速度の時系列に対して 1.07 秒遅らせた。

3. 扇状体と楕円体のコラム細胞集団は同期して活動する

扇状体のコラム細胞集団が、頭方位を符号化することで知られる楕円体のコラム細胞集団［2〜5］と、どのような関係にあるかを解析するために、両方の細胞集団にカルシウム指示タンパク質を発現させ、飛行中のカルシウム活動を同時記録した（図 3a、b）。その結果、扇状体のコラム細胞集団が示す環状ダイナミクスが、楕円体のコラム細胞集団が示す環状ダイナミクスと同期していることがわかった（図 3c）。例えば、扇状体の両端のコラムが活動したときには、楕円体の腹側部にあるコラムが活動しており、扇状体の中央のコラムが活動したときには、楕円体の背側部にあるコラムが活動していた（図 3c）。この結果は、扇状体と楕円体のコラム細胞集団群が一つの機能的ネットワークを形成していることを示唆する。

個々の扇状体コラム細胞は、扇状体の特定のコラムと、PB と呼ばれる領域の特定の場所に投射する（図 3a）。同様に、個々の楕円体コラム細胞は、楕円体の特定のコラムと、PB の特定の場所に投射する（図 3a）。各細胞の投射パターンを解析した先行研究［6］と、扇状体、楕円体の動機かどう部位を比較したところ、両者の間に対応関係がみられた。すなわち、同期して活動を示すコラム（例えば扇状体のコラム 1 と楕円体のコラム 1）は、PB の同じ場所に投射していることがわかった。この結果は、扇状体、楕円体のコラム細胞集団の同期活動が、両者の間の規則的な配線パターンにより生み出されていることを示唆する。

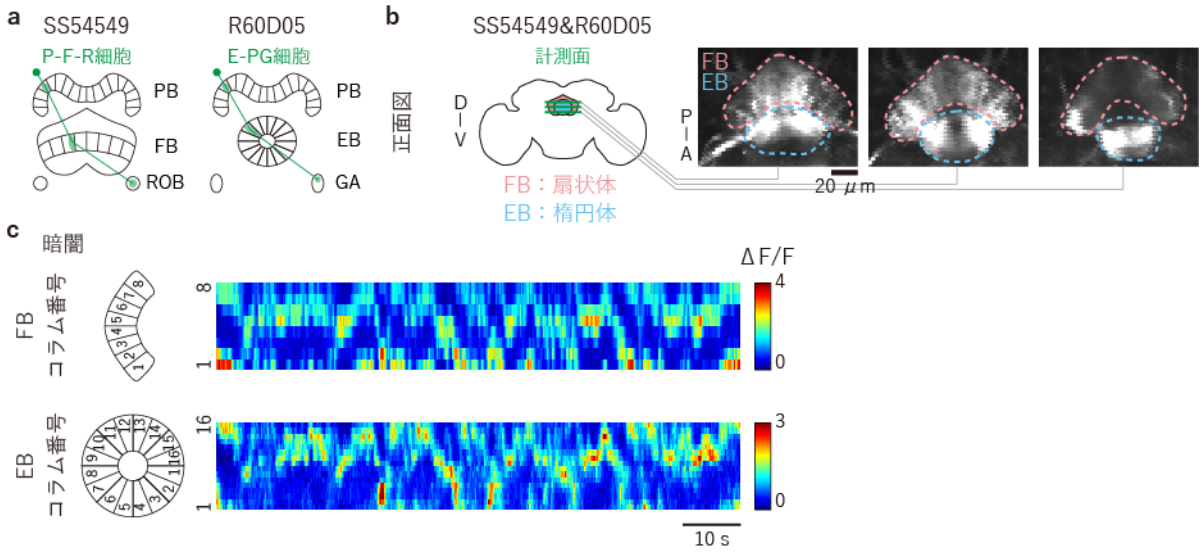


図 3. 扇状体と楕円体のコラムニューロン集団は同期して活動する

a）扇状体のコラム細胞の一種（P-F-R 細胞）と楕円体のコラム細胞の一種（E-PG 細胞）の模式図。SS54549、R60D05 はそれぞれドライバーラインの名前を表す。FB、扇状体。EB、楕円体。PB、ROB、GA はそれぞれ脳領域の名称。

b）2 つのドライバーラインを組み合わせ、扇状体と楕円体のコラム細胞集団にカルシウム指示タンパク質を発現させた。左、脳と脳部位の模式図。右、カルシウム信号の例。

c）扇状体と楕円体のコラム細胞活動の例。

考　察

本研究では、飛行するショウジョウバエの神経活動を記録することで、空間知覚に関わる神経回路を解析した。その結果、従来知られていた頭方位細胞集団の下流に、また別の頭方位細胞集団が存在することがわかった。これら2つの細胞集団は同期した活動を示したことから、2つの細胞集団がひとつの機能的ネットワークを形成して動作することが示唆された。今後、今回発見した神経回路の構造と機能を解析することで、方向感覚および空間知覚に関わる計算が脳内でどのように実装されているかが解明されることが期待できる。

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、理化学研究所脳神経科学研究センター知覚神経回路機構研究チームの風間北斗・太田和美である。

文　献

1) Shiozaki HM, Kazama H. Parallel encoding of recent visual experience and self-motion during navigation in Drosophila. Nat Neurosci. 2017 Oct;20(10):1395-1403. Epub 2017 Sep 4. PMID: 28869583 DOI: 10.1038/nn.4628.

2) Seelig JD, Jayaraman V. Neural dynamics for landmark orientation and angular path integration. Nature. 2015 May 14;521(7551):186-91. PMID: 25971509 DOI: 10.1038/nature14446.

3) Kim SS, Rouault H, Druckmann S, Jayaraman V. Ring attractor dynamics in the Drosophila central brain. Science. 2017 May 26;356(6340):849-853. Epub 2017 May 4. PMID: 28473639 DOI: 10.1126/science.aal4835.

4) Green J, Adachi A, Shah KK, Hirokawa JD, Magani PS, Maimon G. A neural circuit architecture for angular integration in Drosophila. Nature. 2017 Jun 1;546(7656):101-106. Epub 2017 May 22. PMID: 28538731 DOI: 10.1038/nature22343.

5) Turner-Evans D, Wegener S, Rouault H, Franconville R, Wolff T, Seelig JD, Druckmann S, Jayaraman V. Angular velocity integration in a fly heading circuit. Elife. 2017 May 22;6. pii: e23496. PMID: 28530551 DOI: 10.7554/eLife.23496.

6) Wolff T, Iyer NA, Rubin GM. Neuroarchitecture and neuroanatomy of the Drosophila central complex: A GAL4-based dissection of protocerebral bridge neurons and circuits. J Comp Neurol. 2015 May 1;523(7):997-1037. Epub 2014 Dec 16. PMID: 25380328 DOI: 10.1002/cne.23705.