

キイロショウジョウバエ第一次視覚中枢・視葉板の超微細構造

Ultrastructure of the First Optic Neuropil, the Lamina
in the Fruit Fly, *Drosophila melanogaster*浜中良隆^{a*}, 泰山浩司^b

Yoshitaka Hamanaka and Kouji Yasuyama

^a北海道大学理学研究院 行動神経生物学講座^b川崎医科大学自然科学教室 (生物学)

要旨 昆虫の眼 (複眼) で受容された視覚情報はまず、視細胞層 (網膜) の真下に位置する第一次視覚中枢 (視葉板) で処理される。視葉板はカートリッジと呼ばれる単位構造の繰り返しから成る幾何学的な構造体であり、カートリッジの数は複眼の単位構造 (個眼) のそれと等しい。視覚情報はその後、2つの neuropil (視髄と視小葉複合体) を経て脳中枢へと送られる。視葉では数万を越えるニューロンが互いに神経連絡し、回路を形成している。そこでは、動き・色・形・明暗といった視覚情報が順次抽出される。本稿では、神経回路の理解が最も進んでいるキイロショウジョウバエの視葉板に着目し、その超微細構造について概説する。

キーワード: 視細胞, 視葉板, カートリッジ, tetrad シナプス, capitate projection

1. はじめに

動物の脳は膨大な数のニューロンで構成される強大なネットワークである。その数は、脊椎動物で100億個、小さな昆虫でも100万個に及ぶ。ニューロン同士は互いにシナプス結合して、様々な情報を処理している。昆虫の脳内ニューロンは『単極性』で、細胞体から伸びる神経突起は途中で二股に分かれ、それぞれ『樹状突起』と『軸索』を形成する。信号を“発する側”である軸索はその先端で分枝し、コブ状の終末 (varicosity) を形成して終わる。一方、信号の“受け手側”である樹状突起は細かく枝分かれし、多くの場合、その先端は棘状あるいは鉤状の微小突起を伴う。昆虫の脳をミカンに例えれば、ニューロンの細胞体はミカンの皮の部分にだけ存在する。一方で、『neuropil』と呼ばれる果肉の部分には、樹状突起や軸索が存在する。neuropilでは、異なるニューロンに由来する樹状突起と軸索終末がコミュニケーションする。

ニューロン間の信号伝達様式には、大きく分けて『シナプス型』と『神経修飾型』の2種類があり、シナプス型はシナプスと呼ばれる特殊な構造を介した信号伝達である。一方の神経修飾型は、シナプス周辺部の細胞間隙に神経ペプチドなどの伝達物質を局所的に放出することで周囲のシナプス伝達やニューロン活動を修飾する。一般的に、アミンやアミノ酸など低分子の神経伝達物質 (古典的神経伝達物質) は中が透明な (電子密度の低い) 『シナプス小胞』に梱包されている。

一方、分子量の大きな神経ペプチド等は中心に電子密度の高い核を有した『有芯小胞』に梱包される。本稿では、キイロショウジョウバエの第一次視覚中枢 (視葉板) におけるシナプスについて概説するとともに、シナプス研究におけるキイロショウジョウバエの有用性についても触れたい。

2. ショウジョウバエの視覚系

ショウジョウバエを含む昆虫の眼は『複眼』で、地球上の動物の約7割が昆虫であることを考えると、大部分の動物がこの複眼を通して世界を見ていることになる。複眼の設計は1つのレンズ系だけを有する我々のカメラ眼とは大きく異なる。複眼は『個眼』と呼ばれる単位構造の集合体で、1つの個眼に1つのレンズが備わっている (図1)。ショウジョウバエの複眼は片側約750個の個眼を含む。各レンズの下には必ず8個の視細胞 (R1-R8) があり、これら視細胞が個眼の中心に向かって光受容構造 (感桿分体) を形成する (図2)。感桿分体は、視細胞から突出した直径約0.5~0.8 μm程度の細長い小管構造 (微絨毛) が無数に規則正しく積み重なった構造体であり、そこには光受容タンパク (ロドプシン) が高密度で局在する。

8個の視細胞は、i) 個眼軸の周囲を取り囲むように配置されている周辺視細胞 (R1-R6) と、ii) これらに取り囲まれるように配置した中心視細胞 (R7, R8) の2種類に分けられる (図2)。複眼で捉えられた視覚情報は視覚中枢 (視葉) に送られる。視葉は3つの neuropil (外側から順に、視葉板、視髄、視小葉複合体) で構成され、各 neuropil 間は2つの視交叉 (chiasma) で結ばれている。ハエの視小葉複合体はさらに、視小葉と視小葉板に分けられる (図1)。各 neuropil で

*〒060-0810 札幌市北区北10条西8丁目

TEL & FAX: 011-706-3446

E-mail: yoshi.hamanaka@gmail.com

2015年5月12日受付

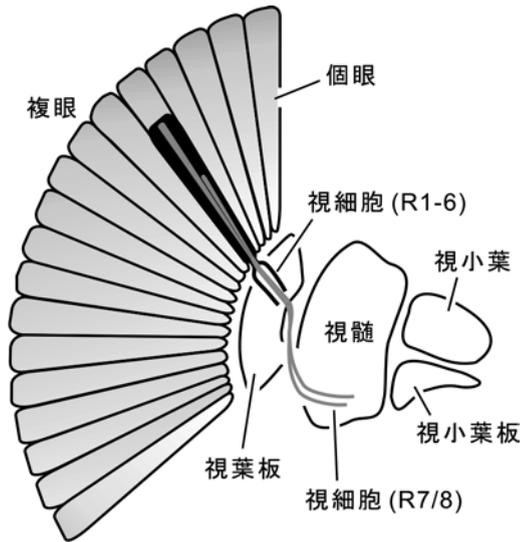


図1 キイロショウジョウバエ視覚系の模式図
 ショウジョウバエ視覚系を背側からみた様子(図の上が前方)。ショウジョウバエの眼(複眼)は個眼と呼ばれる単位構造からなり、1つの個眼には8つの視細胞(R1-R8)が含まれている。視細胞の細胞層(網膜)の下には、視覚中枢(視葉)があり、視葉は外側から順に視葉板、視髄、視小葉複合体(視小葉と視小葉板)で構成されている。視細胞のうち、周辺視細胞(R1-R6)は視葉板に終末する。一方、中心視細胞(R7とR8)は視葉板を貫通し、視髄に直接シナプス入力する¹⁸⁾。

は、視覚刺激の特徴(動き、色、形、明暗など)が抽出される。視細胞軸索のうち、R1-R6は視葉板に入力する。一方、R7とR8は視葉板を通り抜け、視髄に直接入力する(図1)。

複眼後縁部には個眼とは別に、4個の視細胞から構成される網膜外光受容器があり、これからの視細胞軸索は視葉板や視髄を迂回して、視髄前方に位置する副視髄に直接投射する¹⁾。同様の網膜外光受容器はショウジョウバエのほかにルリキンバエにも存在し、概日時計ベースメーカーニューロンにシナプス入力している²⁾。

3. 視葉板の構造

第一次視覚中枢『視葉板』は単位構造(カートリッジ)の繰り返し配列から成る(図3, 4a)。各カートリッジには、その真上に位置する個眼(仮に α とする)のR7とR8に加え、個眼 α に隣接する6個の個眼のR1-R6の中の1つが投射する(神経重複型)(図2)。言い換えれば、1つのカートリッジに含まれるR1-R6は異なる6個の個眼に由来する(図2)。R1-R6は視葉板で2次ニューロン(視葉板単極性ニューロン)にシナプス入力する(図4b)。視葉板は視細胞R1-R6からの求心性入力に加え、脳中枢からの遠心性入力も受ける。ショウジョウバエの視細胞はアミンの1つであるヒスタミンを伝達物質とし^{3,4)}、視細胞終末はヒスタミンを含むシナプス小胞で満たされている(ca. 800 vesicles per μm^3 , 図4b)⁵⁾。一方、神経ペプチドや有芯小胞は一切含まない。各カートリッジはそれぞれ、3つのグリア細胞(epithelial glia)で取り囲まれ

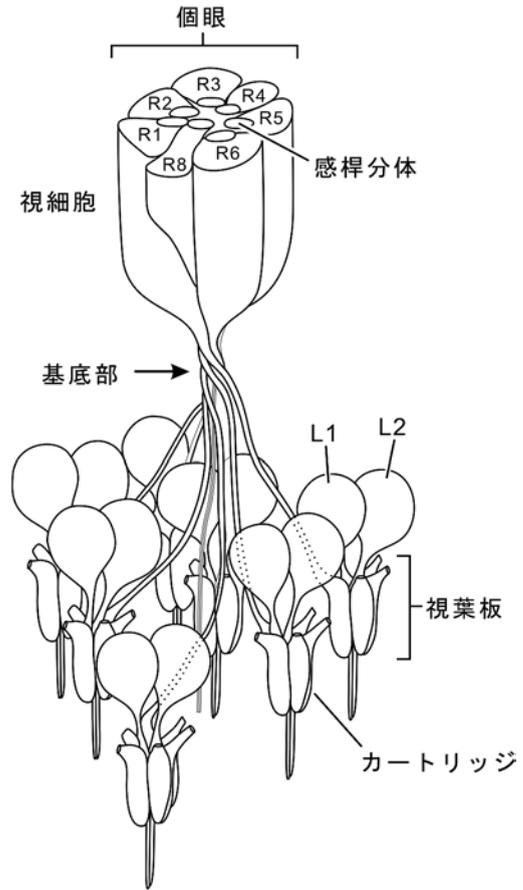


図2 ショウジョウバエ視細胞の軸索投射様式
 視細胞(R1-8)は、個眼の基底部に細い軸索を形成して視葉板に入り込む。各視細胞の細胞体は、個眼の中心に向かって光受容構造(感桿分体)を形成する。R7は個眼の遠位層側に感桿分体を形成するため、図に示した深さではみえない。一つの個眼に含まれる周辺視細胞(R1-R6)はそれぞれ、近傍の異なる6つのカートリッジに入力する。視細胞(R1-R6)は視葉板において、主に視葉板単極性ニューロン1と2(L1とL2)にシナプス入力する。Meinertzhagen and Hanson (1993)を改変¹⁹⁾。

ている(図3, 4a)。これらグリア細胞は視細胞の軸索終末に陥入することで、capitate projection (CP)と呼ばれる構造体を形成する(図4aの矢印)。このcapitate projectionは頭部(head)と柄(stalk)の2つから成り(図4c, i)伝達物質の開口放出の際にシナプス前膜と癒合したシナプス小胞の再生領域、及びii)シナプス間隙に放出されたヒスタミンが代謝酵素(Ebony)によって分解された後、その代謝産物を再取り込みする場所として機能している⁶⁾。

4. ショウジョウバエのシナプスの超微細構造

シナプスはニューロン間の情報伝達に特化した特殊な構造体である。信号を発する側をシナプス前ニューロン、信号を受け取る側をシナプス後ニューロンと呼ぶ。シナプスは大きく分けて、電気シナプスと化学シナプスに分けられる。前者では、軸索終末に流れ込んだ活動電流の一部がギャップ結合を通してシナプス後ニューロンに流れ込み信号が伝えられ

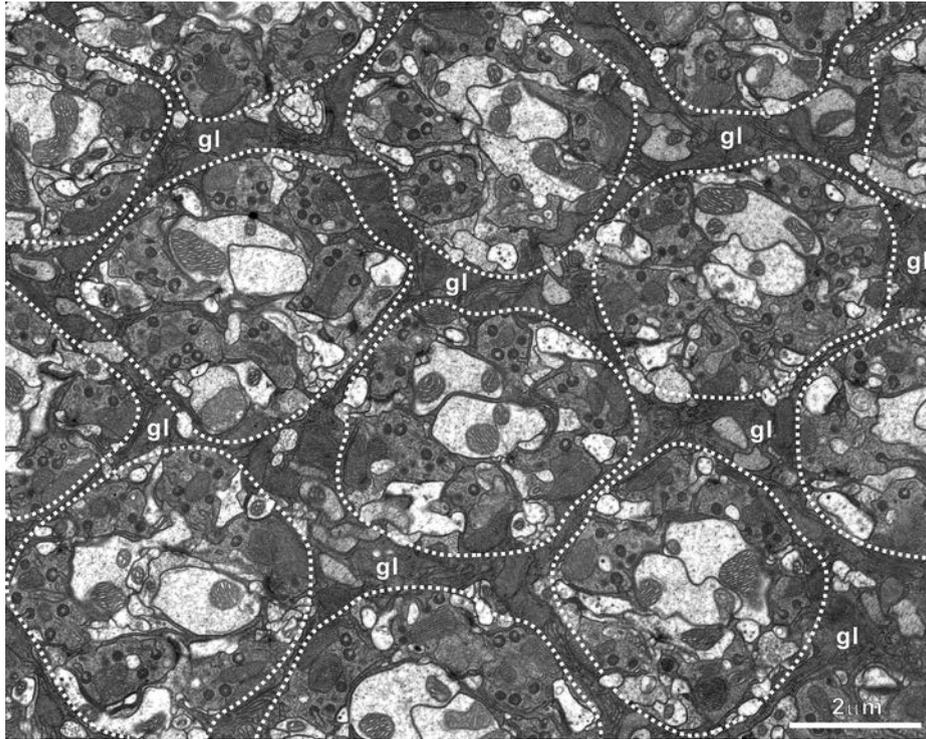


図3 ショウジョウバエの視葉板カートリッジの電子顕微鏡写真

第一次視覚中枢・視葉板の電子顕微鏡写真（横断面）。視葉板はカートリッジと呼ばれる単位構造が規則正しく配列した幾何学的な構造体である。各カートリッジは3つのグリア細胞により取り囲まれている。破線はそれぞれ、単一カートリッジを示す。gl, グリア細胞。

る。後者では、軸索終末部に達した活動電位は、シナプス前ニューロンからの神経伝達物質の開口放出を介してシナプス後ニューロンに伝えられる。本稿では、化学シナプスについてのみ言及する。化学シナプスは2つの異なるニューロンの細胞膜が10～20 nm隔てた特殊な細胞間隙（シナプス間隙）である。シナプス前膜には伝達物質の放出に必要なタンパク質が、一方、相対するシナプス後膜には伝達物質の受容体や骨組みタンパク質などが局在する⁷⁾。これらタンパク質の存在から、シナプス前膜および後膜は電子顕微鏡写真において黒色を呈する（図4b）。この特徴に加え、ショウジョウバエ視覚系のシナプスでは、T-bar リボンと呼ばれる電子密度の高い構造がシナプス前膜側にみられる（図4b）。T-bar リボンを有する化学シナプスは、視覚系だけでなく、神経筋接合部位や中枢脳においても観察される⁸⁾。T-bar リボンは台座（pedestal）とそれを被う薄板（platform）からなり、横断面でT字型あるいはΠ字型を呈する（図4b）。近年、視細胞軸索終末において、シナプス伝達に関わる細胞内小器官（T-bar リボンやcapitate projectionなど）を構成するタンパク質の一部が明らかになってきた^{9,10)}。その一つがBruchpilot [ドイツの古い映画“Bruchpilot（英語でcrash pilotの意）”に因んで名付けられた]で、bruchpilotに欠損があるハエはシナプスの伝達異常から上手く飛べない。免疫電子顕微鏡法、及び変異体を用いた構造解析の結果、このBruchpilotタンパク質はT-bar リボンの構成要素の一つであることがわかって

いる^{9,10)}。因みに、映画に登場するパイロットはいつも墜落するが必ず生還する。他にも、腫瘍抑制因子あるいは骨組みタンパク質として知られるDiscs largeタンパクはcapitate projection（視細胞軸索終末でのエンドサイトーシスの場）の頭部に、神経伝達物質の放出に重要なCysteine string proteinはT-bar リボン近傍のシナプス小胞群の中に、さらに、epidermal growth factor receptor pathway substrate clone 15（EPS-15）（神経筋接合部位でシナプス周辺部に局在）は、capitate projection周囲のシナプス小胞プールに局在することがわかっている [光学顕微鏡レベルでは、EPS-15とダイナミン（エンドサイトーシスの際の小胞の切り離しを触媒する）が共局在する]。

5. ショウジョウバエ視細胞（R1-R6）の出力シナプス

一般的に脊椎動物のシナプスはmonoadicで、1つのシナプス前要素は1つのシナプス後要素に入力する（ただし、網膜の神経回路を除く）。一方、ショウジョウバエのシナプスでは、1つのシナプス前要素は2～4個、ないし5個以上のシナプス後要素にシナプス入力する。シナプス後要素が2個の場合を“diad”、3個の場合を“triad”、4個の場合を“tetrad”と呼ぶ。視細胞R1-R6の軸索終末はそれぞれ、視葉板で約50個の出力シナプスを形成しており、その受け手側には常に4つのシナプス後要素が存在する（tetrad synapse）。R1-R6のtetradにおけるシナプス後要素は必ず視葉板単極性

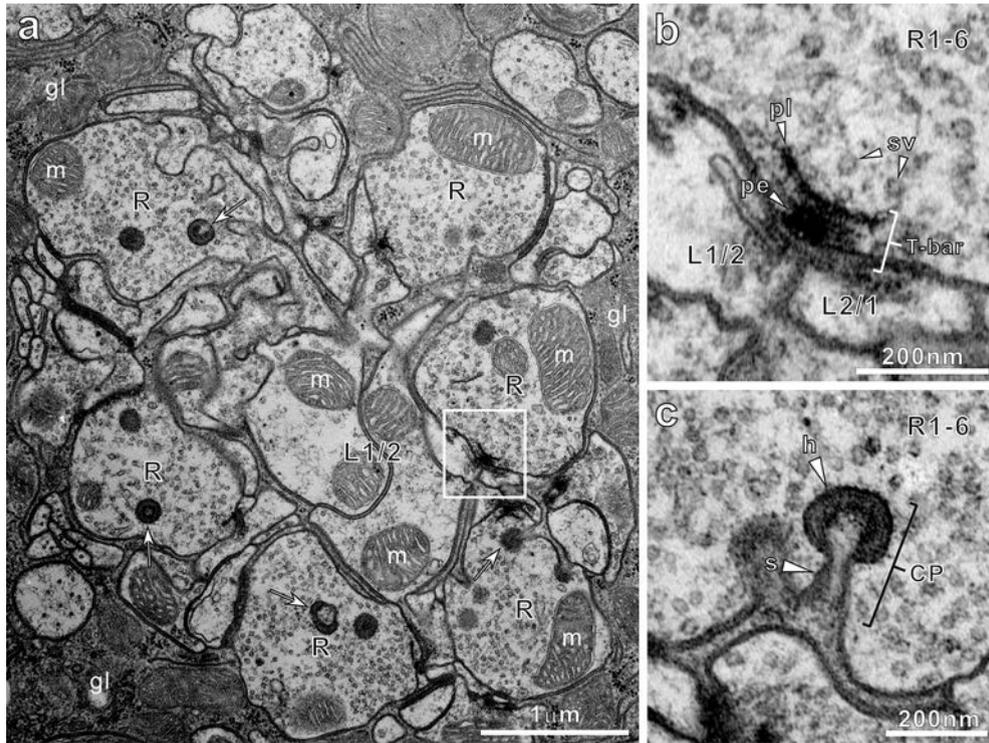


図4 視葉板カートリッジの超微細構造

a: 単一カートリッジの電子顕微鏡写真 (横断面). 6つの周辺視細胞 (R1-R6) の軸索終末 (R) が視葉板単極性ニューロン 1と2 (L1とL2) の軸索を取り囲むように配列している. 矢印は視細胞軸索終末に陥入した capitate projection を示す. b: 視細胞 R1-R6 の Tetrads シナプス (a の四角の部分拡大したもの). 視細胞 (R1-R6) の軸索終末が L1 と L2 の神経突起に出力性シナプスを形成しており, シナプス前膜側に T-bar リボンが観察される. シナプス胞 (sv) の中には伝達物質であるヒスタミンが梱包されている. c: capitate projection (CP). 頭部 (h) と柄 (s) から成る. gl, グリア細胞; m, ミトコンドリア; pe, pedestal; pl, platform.

ニューロン 1 と 2 (L1 と L2) を含んでおり, 残りの 2 つは i) L3 とアマクリン細胞, ii) L3 と グリア細胞, iii) 2 つのアマクリン細胞, あるいは iv) 2 つの グリア細胞のいずれかである^{11,12}. 1 つのカートリッジに含まれる R1-R6 はすべて異なる個眼に由来するが, 空間上の同じ点からの光を受容している. つまり, 空間上のある一点からの光情報は, 視葉板カートリッジにおいて, 2 つの二次ニューロン (L1 と L2) に等しく入力する (図 4b). ちなみに, ハエの L1 と L2 は動きの検出チャンネルとして機能しており, 色の情報は視細胞 R7 と R8 により検出され視髄へと直接送られる.

6. シナプス研究におけるショウジョウバエの有用性

近年ショウジョウバエにおいて, シナプスの構造, 機能, そして形成機構の理解が飛躍的に進んでいる⁸. その理由の 1 つは, ショウジョウバエでは, 単一細胞レベルで同定・解析可能なニューロン (同定可能ニューロン, identifiable neurons) が数多く存在するためである. すでに紹介したように, ショウジョウバエ視葉板の理解は非常に進んでおり, その細胞構成や神経結合パターンは '90 年代前半にほぼ完全に解明されている. 二つ目の理由は, Gal4/UAS システムに代表される遺伝子工学の発展であろう. Gal4/UAS システムとは, 酵母の 2 ハイブリッド方式の転写制御システムを利用した技

術で, これを使えば細胞あるいは組織特異的に目的の遺伝子を強制発現させることができる¹³. Gal4 タンパク質は upstream activating sequence (UAS) 配列に結合し, UAS の下流にある遺伝子の転写を促進する. 実験手順はいたって簡単で, Gal4 を持つハエ (Gal4 システム) と UAS-導入遺伝子を持つハエ (UAS システム) を交配させるだけである. 交配によって得られた子供は, Gal4 の上流にあるプロモーターあるいはエンハンサーの制御下において, 目的の導入遺伝子を細胞あるいは組織特異的に発現する. 例えば, *GMR* (視細胞でのみ活性を持つ遺伝子配列で, 下流にある遺伝子の発現を促進する) に Gal4 をつないだ人工遺伝子 (*GMR-Gal4*) を使えば, 視細胞に目的の遺伝子を強制発現させることができる. 例えば, Wagh ら (2006) は, *elav > brp-RNAi*^{C8} (Gal4/UAS システムを使って, 全ての神経細胞で *bruchpilot* の double strand RNA を強制発現させたハエ) では T-bar リボンが消失することから, *Bruchpilot* タンパク質が T-bar リボンの構成要素の 1 つであると主張した⁹.

7. おわりに

生物の遺伝子を網羅的に解析するゲノミクス, そしてタンパク質を網羅的に解析するプロテオミクスに続き, 現在は中枢神経系の神経結合パターンを網羅的に理解しようとする

『コネクトーム』の時代に突入した。コネクトーム研究は近年、ショウジョウバエの視覚系で精力的に進められており、その神経結合関係の理解の範囲は視髄を超えて、より中枢に近い視小葉複合体にまで及んでいる^{14~16)}。将来的には中枢脳のニューロンの神経結合パターンも完全に理解される日が訪れるかもしれない。一方で、シナプス前要素とシナプス後要素の選択的接着の仕組み、T-bar リボンの構成要素とその機能、あるいは中枢脳（キノコ体や中心体）の化学シナプスに関して等、シナプス研究にはまだまだ取り組むべき課題が山積している。今後は、新しい発見を積み重ねて行くことだけでなく、様々なタイプのシナプスでわかってきた事柄を1つにまとめ、シナプス形成の仕組みを包括的に捉えたモデル作りに取り組んでいくべきかもしれない。

小さな体を素早く敏捷に動かすことが求められる昆虫では、運動視が重視される。これに対してヒトなど哺乳類の視覚系では、像の細かな特徴を捉える形態視が重視される¹⁷⁾。求められる基本的機能が異なる視覚系において、眼の形成に参与する遺伝子や光受容の分子機構が類似していることは両者の眼の起源が共通であることを示唆する。昆虫の視覚系と脊椎動物の視覚系のコネクトーム研究によって、それぞれの基本設計の類似性と独自性が明らかにされることを期待したい。

文 献

- 1) Yasuyama, K. and Meinertzhagen, I.A.: *J. Comp. Neurol.*, 412, 193–202 (1999)
- 2) Yasuyama, K., Okada, Y., Hamanaka, Y. and Shiga, S.: *J. Comp. Neurol.*, 494, 331–344 (2006)
- 3) Hardie, R.C.: *J. Comp. Physiol. A*, 161, 201–213 (1987)
- 4) Hardie, R.C.: *Nature*, 339, 704–706 (1989)
- 5) Borycz, J.A., Borycz, J., Kubów, A., Kostyleva, R. and Meinertzhagen, I.A.: *J. Neurophysiol.*, 93, 1611–1619 (2005)
- 6) Fabian-Fine, R., Verstreken, P., Hiesinger, P.R., Horne, J.A., Kostyleva, R., et al.: *J. Neurosci.*, 23, 10732–10744 (2003)
- 7) Fröhlich, A.: *J. Comp. Neurol.*, 241, 311–326 (1985)
- 8) Prokop, A. and Meinertzhagen, I.A.: *Semin. Cell Dev. Biol.*, 17, 20–30 (2006)
- 9) Wagh, D.A., Rasse, T.M., Asan, E., Hofbauer, A., Schwenkert, I., et al.: *Neuron*, 49, 833–844 (2006)
- 10) Hamanaka, Y. and Meinertzhagen, I.A.: *J. Comp. Neurol.*, 518, 1133–1155 (2010)
- 11) Meinertzhagen, I.A. and O'Neil, S.D.: *J. Comp. Neurol.*, 305, 232–263 (1991)
- 12) Meinertzhagen, I.A. and Sorra, K.E.: *Prog. Brain Res.*, 131, 53–69 (2001)
- 13) Phelps, C.B. and Brand, A.H.: *Methods*, 14, 367–379 (1998)
- 14) Takemura, S.-Y., Lu, Z. and Meinertzhagen, I.A.: *J. Comp. Neurol.*, 509, 493–513 (2008)
- 15) Takemura, S.-Y., Karuppudurai, T., Ting, C.Y., Lu, Z., Lee, C.H., et al.: *Curr. Biol.*, 21, 2077–2084 (2011)
- 16) Takemura, S.-Y., Bharioke, A., Lu, Z., Nern, A., Vitaladevuni, S., et al.: *Nature*, 500, 175–181 (2013)
- 17) Mizunami, M., Yokohari, F. and Takahata, M.: *Zool. Sci.*, 12, 1141–1151 (2004)
- 18) Braitenberg, V.: *Exp. Brain Res.*, 3, 271–298 (1967)
- 19) Meinertzhagen, I.A. and Hanson, T.E.: in: Bate, M. and Martinez, A.A. (Eds.), *The Development of Drosophila melanogaster*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1363–1491 (1993)