

学 位 論 文 題 名

Functional Role of Nonspiking Local Interneurones
Underlying Descending Modulation of the Crayfish
Avoidance Reaction

(ザリガニ回避行動修飾時におけるノン
スパイキング介在神経の機能に関する研究)

学位論文内容の要旨

動物がある特定の感覚刺激に対し示す行動・応答パターンは常に同じとは限らず、そのときの他の感覚条件や、動物自身の活動状態や姿勢によって著しく変化することは脊椎・無脊椎動物を問わず広く一般にみられる現象である。甲殻類や昆虫類といった節足動物は、定型的行動をよく示し、その神経系が比較的単純なことから、動物行動の発現・修飾の神経機構を細胞レベルで解析する際の優れた研究対象となる。これらの動物の神経系は、各体節ごとに数百から数千の神経細胞が集合した神経節が連結したはしご状構造を示す。各神経節では局在性介在神経を中心とした局所回路網を形成し、それぞれの体節由来の付属肢などの反射様の運動パターンを作り出し、各神経節間を結ぶ上行性・下行性介在神経が局所回路網を制御し、ある行動発現時の体節間の協調性を生み出すと同時に様々な行動修飾に関与するものと考えられている。

ある特定の感覚刺激に対し、節足動物は局所性反射様の運動パターンをよく示す。たとえばアメリカザリガニ (*Procambarus clarkii* Girard) は、休息状態にあるとき、尾部への接触刺激にたいし、最終付属肢の尾扇肢を閉じながら前進する回避行動を示す。この時の尾扇肢が閉じる運動パターンは、最終腹部神経節内の局所回路網によって制御されており、各神経要素の役割・接続パターンについては詳細に解析されている。特に、腹部最終神経節に固有のノンスパイキング介在神経がもっとも主要な前運動性要素として、この局所回路に組み込まれ、活動電位を全く発生せずに、シナプス活動により、尾扇肢運動神経の活動をアナログ的に制御している。ノンスパイキング介在神経は、その細胞体の位置と基本的形態の違いから大きく PL 型と AL 型に分類でき、反対側からの感覚入力によって尾扇肢に正反対な動きを引き起こす並列・相反回路を形成している。

この回避行動発現時の尾扇肢運動は、基本的に腹部最終神経節内の局所回路網によって引き起こされるのであるが、上位中枢からの抑制性修飾を受ける。つまり、ザリガニが遊泳中・威嚇姿勢時のように腹部を強く伸展させている状態では、同じ感覚刺激が与えられても、尾扇肢運動神経には顕著な応答パターンが生じない。腹部伸展は下行性介

在神経によって引き起こされ、この下行性入力が感覚刺激に対する局所性反射様の尾扇肢運動パターン形成の局所回路網、特に2タイプのノンスパイキング介在神経の活動性を修飾するものと考えられる。本研究は、ザリガニの腹部伸展活動を実験的に引き起こすことで、上位中枢からの下行性入力局所回路神経の活動性をどのように制御しているか、電気生理学・解剖学的手法を用いて解析し、2タイプのノンスパイキング介在神経が形成している並列・相反経路が回避行動修飾にどのような機能的役割を果たしているか、解明したものである。

実験方法としては単離した神経標本を用い、腹部縦連合の神経束に含まれる腹部伸展誘起下行性介在神経を局所的に電気刺激することで腹部伸展活動を実験的に引き起こした。この伸展活動中のノンスパイキング介在神経の応答を、尾扇肢感覚刺激を与えたときの応答と比較することで、並列・相反経路の活動バランスがどのように変化するか解析した(第1章)。また、尾扇肢運動の下行性調節経路を詳細に解析するため、下行性介在神経の最終神経節内での接続を解剖学的に推定し(第2章)、生理学的に確かめた(第3章)。

第1章： 同側の感覚刺激に対する応答を解析し、反対側と同様の結果を得た。さらに、腹部伸展活動中の局所回路内の神経要素の応答を解析し、尾扇肢からの感覚入力と比較した。下行性介在神経刺激により腹部伸展活動が現れたときには、機械感覚刺激を与えたときとは逆の開くパターンが尾扇肢運動神経に発生し、この時に感覚刺激を与えても尾扇肢を閉じる方向への活動パターンは発現しない。上行性あるいは局在性スパイキング介在神経とノンスパイキング介在神経について腹部伸展活動中の下行性入力を解析したところ上行性または局在性スパイキング介在神経は顕著な下行性入力をほとんど受けていなかった。一方、ノンスパイキング介在神経は、その多くが下行性入力を受けており、並列・相反経路の各要素について感覚入力と下行性入力を比較したところ、入力の符号の向きは逆であった。こうして、尾扇肢運動発現のための尾扇肢からの感覚入力は、最終神経節内のノンスパイキング介在神経で下行性入力と打ち消しあい、尾扇肢運動パターンが消失することが示唆された。

第2章： 下行性介在神経の最終神経節への投射形態と尾扇肢運動神経への出力効果から、7種類の下行性介在神経を分類した。解剖学的解析により、これらの下行性介在神経はニューロパイルの背側部に投射していることが明らかになった。この領域には運動神経とノンスパイキング介在神経の樹上突起も投射しており、下行性介在神経と運動神経、ノンスパイキング介在神経の突起の空間的なオーバーラップが確認され、下行性介在神経と尾扇肢運動神経、ノンスパイキング介在神経との単シナプス性接続が解剖学的に可能であることが示唆された。一方、感覚神経の神経節内投射は腹側部に限られており、下行性入力局所回路神経をシナプス前的に抑制している可能性を否定できた。

第3章： 下行性介在神経と尾扇肢運動神経・ノンスパイキング介在神経のシナプス接続を生理学的に解析した。下行性介在神経刺激により興奮性の応答を示す尾扇肢 opener 運動神経は、単一の下行性介在神経の活動電位の発火に対して、常に一定の短い中枢内潜時で応答し、下行性介在神経と単シナプス接続していた。一方、closer 運動神経は比較的ばらついた遅い潜時で抑制性応答し、その抑制は下行性介在神経より単シナプ

スの脱分極性入力を受けるノンスパイキング介在神経によって引き起こされていることが明らかになった。また、脱分極性の入力を受けるノンスパイキング介在神経は、opener運動神経にも同様に出力をもった。こうしてノンスパイキング介在神経は直接下行性入力をうけ、伸展中の尾扇肢運動神経の活動を制御していることが判明した。

以上の結果は、腹部伸展時の下行性入力による回避行動の修飾、特に尾扇肢開閉運動の制御がノンスパイキング介在神経のレベルで起こることを示している。ノンスパイキング介在神のみが、末梢からの局所感覚入力・上位中枢からの下行性入力を同時に受け取り、2つのタイプのノンスパイキング介在神経によって形成される並列・相反経路の活性化バランスが変化したことで、回避行動の発現が抑制性修飾を受けたわけである。このノンスパイキング介在神経が形成する並列・相反的な神経経路によって、外部環境の変化・動物の内的活動状態に即した適切な尾扇肢運動パターンが形成されており、この並列・相反的な神経経路が行動パターンの柔軟性・階層性の神経基盤を考える上での一つのモデルとなることを強く示唆した。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 高 畑 雅 一
副 査 教 授 浦 野 明 央
副 査 助 教 授 鈴 木 教 世
副 査 助 教 授 長 山 俊 樹

学 位 論 文 題 名

Functional Role of Nonspiking Local Interneurones Underlying Descending Modulation of the Crayfish Avoidance Reaction

(ザリガニ回避行動修飾時におけるノン
スパイク介在神経の機能に関する研究)

近年、ヒトなど高等脊椎動物を含む動物の脳機能に関する研究が盛んに行われている。しかし、その多くは、特定の行動、特定の感覚といった個別的機能およびその学習や記憶機構の解明を目的としている。広く自然界で見られる多くの動物が示す種特異的な定型行動が、動物の行動状態や内的状態によってどのような実時間的影響を受けるかという行動修飾の動的神経機構の解明は未開拓の分野で、今後の発展が待たれている状況にある。

本論文は、このような状況にある動物行動の修飾機構について、アメリカザリガニ *Procambarus clarkii* Girard の回避行動を実験系として用いて生理学的、解剖学的にそのシナプス機序を解明することを目的として行われた一連の研究結果をまとめたものである。ザリガニは、休息時の尾部への接触刺激に対し、最終付属肢の尾扇肢を閉じながら前進する回避行動を示す。しかし、遊泳中・威嚇姿勢時のように腹部を強く伸展させている状態では、同じ感覚刺激が与えられても、尾扇肢運動神経には顕著な応答パターンが生じない。尾扇肢の筋肉を支配する運動神経は、最終腹部神経節内の局所回路によって制御されており、各神経要素の役割・接続パターンについては詳細に解明されている。特に、活動電位を発生せずに情報伝達を行うノンスパイク介在神経 (NSI) が最も主要な前運動性要素として、この局所回路に組み込まれ、そのシナプス活動により、尾扇肢運動神経の活動を直接的に制御している。NSIは、同一の感覚入力によって尾扇肢に正反対な動きを引き起こす並列・相反回路を形成する。本論文は、この局所回路の下行性制御様式を、蛍光色素を充填したガラス管微小電極を用いた電気生理学・解剖学的手法により解析し、NSIが形成する並列・相反経路が回避行動修飾に決定的な役割を果たすことを明らかにした。

実験には単離神経標本を用い、腹部縦連合の神経束に含まれる腹部伸展誘起下行性介在神経を局所的に電気刺激することで腹部伸展活動を実験的に引き起こした。並列・相反経路の各要素について、伸展活動中の下行性入力に対するシナプス活動を、尾扇肢感覚刺激を与えたときの活動と比較しながら解析した結果、下行性入力と感覚入力との間で、符号の向きが逆であることが判明した。この結果より、尾扇肢運動発現のための尾扇肢からの感覚入力は、最終神経節内のNSIで下行性入力と打ち消しあうことによって、尾扇肢運動パターンが消失することが示された。

下行性介在神経は、その最終神経節への投射形態と尾扇肢運動神経への出力効果から、7種類に分類された。解剖学的解析により、これらの下行性介在神経はニューロパイルの背側部に投射していることが明らかになった。この領域には運動神経とNSIの樹上突起も投射しており、下行性介在神経と運動神経、NSIの突起の空間的なオーバーラップが確認され、下行性介在神経と尾扇肢運動神経、NSIとの単シナプス性接続が解剖学的に可能であることが示唆された。一方、感覚神経の神経節内投射は腹側部に限られており、本論文により、下行性入力に直接感覚神経をシナプス前的に抑制している可能性は否定された。

下行性介在神経と尾扇肢運動神経・NSIのシナプス接続を生理学的に解析した結果、下行性介在神経刺激により興奮性の応答を示す尾扇肢開筋運動神経は、下行性介在神経と単シナプス接続するのに対し、閉筋運動神経の抑制は、下行性介在神経と単シナプス的に接続するNSIを介して引き起こされると結論された。脱分極性の入力を受けるNSIは、開筋運動神経にも同様の出力を示した。すなわち、NSIは直接下行性入力をうけ、伸展中の尾扇肢運動神経の活動を制御していることを明らかにした。

以上の結果より、本論文は、腹部伸展時の下行性入力による回避行動の修飾、特に尾扇肢開閉運動の制御がNSIのレベルで起こることを実験的にはじめて証明した。NSIのみが、末梢からの局所感覚入力・上位中枢からの下行性入力を同時に受け取り、NSIが形成する並列・相反経路の活性化バランスが変化することで、回避行動の発現が抑制性修飾を受けるものと結論される。

これを要するに、著者は、外部環境の変化・動物の内的活動状態に即した行動発現の修飾機構について、NSIが形成する並列・相反的な神経経路に基づくという新知見を得たものであり、動物行動の神経機構の解明を目指す神経行動学研究の発展に貢献するところ大なるものがある。

よって著者は、北海道大学博士（理学）の学位を授与される資格あるものと認める。