

学 位 論 文 題 名

Neuronal Mechanisms Underlying the Hierarchical Control of Uropod Steering Behavior During Walking in Crayfish.

（歩行運動遂行中のザリガニ尾扇肢舵取り運動
における階層的制御の神経機構）

学位論文内容の要旨

動物体の姿勢は、体幹および付属肢が示す姿勢反射によって維持・調節される。これらの姿勢反射は、重力覚・視覚・自己受容覚などの感覚入力によって解発されるが、その発現は行動文脈に依存する。多くの動物で、静止時には姿勢反射が抑えられる一方、移動運動（locomotor behavior）遂行中は、姿勢反射によって適切な体位を積極的に維持しようとする。姿勢制御に限らず、動物の反射・定型行動の発現は、一般に、行動文脈に依存しており、それぞれの行動の優先順位にしたがって階層的に制御される。しかし、行動発現の階層的制御を実現するための神経機構の研究の多くは、個体レベルでの行動観察が主で、中枢神経系をブラックボックスとして取り扱う間接的議論にとどまっている。細胞・シナプスレベルでの研究は、極めて少数の実験系に限定される。その一つの理由は、階層的制御の神経機構を解析する上で、行動実験系と生理学実験系との適切な組み合わせを得ることの困難にある。

本研究では、アメリカザリガニ*Procambarus clarkii* Girardを実験動物として用い、歩行運動および姿勢反射運動遂行中に、中枢神経活動を細胞内記録するための無麻酔全体標本を作成した。姿勢反射としては、腹部最終付属肢である尾扇肢の舵取り運動を採用した。この反射は、歩行運動遂行中にのみ、体傾斜刺激によって解発される。この標本を用いて、これら2つの行動の間の促進的相互作用のシナプス機構を、ガラス管微小電極法により解析した。

第1章 歩行運動遂行時における尾扇肢平衡反射の感覚制御

ビデオ解析と筋電図記録により、トレッドミル上での歩行運動遂行中に行われる姿勢制御の感覚性制御様式を定量的に調査した。自由行動中のザリガニが、傾斜面を歩行する際の尾扇肢舵取り運動の時間経過は、傾斜状態に対して必ずしも一定していない。この反射は、平衡胞と歩脚自己受容器により制御されるが、固定標本を用いた従来の知見では、自然歩行中の舵取り運動で見られる変異性を説明できない。本研究により、歩行中の姿勢制御においては、平衡胞入力が持続的効果を、歩脚自己受容器入力が一過性の効果をそれぞれ示すことが判明した。平衡胞入力では、傾斜状態が有効刺激として尾扇肢運動系に働き、歩脚自己受容器入力では、傾斜時の変化分が有効刺激となる。自然状態での舵取り運

動の変異性は、2種の感覚入力が重なる際の両者の時間的特性の違いによるものと考えられる。また、自己受容器入力は、平衡胞入力よりも強い効果を尾扇肢運動系に対してもつことが判明した。歩行時の姿勢制御は、平衡胞によって解発された付属肢の反射運動によって生じる自己受容器入力に基本的に依存するものと考えられる。

第2章 歩行運動遂行中における尾扇肢平衡反射の中枢制御：運動系背景興奮性の拮抗的調節

トレッドミルに固定した無麻酔全体標本に微小電極法を適用し、歩行運動中の尾扇肢運動系のシナプス活動を記録・解析した。調査した細胞は、腹部最終神経節内の尾扇肢運動神経の他に、下行性介在神経および前運動性ノンスパイキング介在神経である。その結果、歩行運動遂行中には下行性介在神経を介した尾扇肢運動系への入力に変化し、尾扇肢開筋を支配する運動神経および閉筋を支配する運動神経いずれもが持続的に脱分極することが判明した。歩行運動遂行中または腹部姿勢運動遂行中には、尾扇肢運動神経への興奮性入力は、少なくとも部分的には前運動性ノンスパイキング介在神経を介して伝えられることが示されているが、本研究であらたに、これらと並列する別のノンスパイキング介在神経を介して尾扇肢運動神経へ抑制性入力を伝達する経路が見出された。この経路は1種のフィードフォワード機構を形成し、歩行中に尾扇肢運動神経が受ける興奮性入力に対して、シナプス後抑制を用いて上限を設けるリミッタとして働くと考えられる。

第3章 歩行運動遂行中における尾扇肢平衡反射の中枢制御：歩脚自己受容入力による修飾

トレッドミルと微小電極記録装置を同時に傾斜することのできる実験台を作成し、歩行運動遂行中の無麻酔全体標本を傾けたときの尾扇肢運動系のシナプス活動を記録・解析して、尾扇肢平衡反射の歩行運動による促進的制御機構を調査した。ザリガニが静止状態の時に、足場を傾けることによって歩脚自己受容器を刺激しても、尾扇肢運動神経には閾値下の興奮性シナプス応答しか観察されない。しかし歩行中に同一の刺激を与えると、運動遂行に伴う持続的な脱分極に、静止時よりも増強された興奮性シナプス応答が加算されて、スパイク応答を示した。また、歩脚自己受容器からの抑制性入力は、運動遂行中にのみ記録され、静止時には欠如していた。また、前運動性ノンスパイキング介在神経へのシナプス入力も、静止時と比べて歩行運動中の方が増強されていることが判明した。これらの結果は、歩脚自己受容器入力が胸部神経節から腹部最終神経節に下行する経路において、最終神経節よりも上流において、歩行運動系からの促進性信号によるゲーティングを受けていることを示している。

以上の結果から、歩行運動遂行に伴って、尾扇肢運動神経がノンスパイキング介在神経の並列拮抗的回路を介して受ける興奮性、抑制性、脱抑制性の複数の入力は、その総和として中間的興奮性にとどまることによって、姿勢反射解発性の感覚入力に対して両方向性の応答を可能としていると結論される。尾扇肢の舵取り運動は、片側の開位置と反対側の閉位置という両側性協調によって成立する。歩行運動遂行中に、運動神経の背景興奮性が飽和状態に達しているならば、体傾斜刺激によってさらなる開位置を取ることが不可能となり、また一方、背景興奮性を欠くならば、さらなる閉位置を取ることが不可能となる。ノンスパイキング介在神経の並列拮抗的回路は、尾扇肢運動系に最大限の運動自由度を賦

与するという機能的意義を有するものと考えられる。また、下行性の歩脚自己受容覚—尾扇肢運動経路が、腹部最終神経節のみならずその上流においてもゲーティングを受けるという本研究の結果は、尾扇肢平衡反射の下行性制御経路が、最終神経節を含む複数のゲーティング部位をもつというこれまでの仮説を支持している。この上流ゲーティングの部位については、更なる研究が必要であるが、下行性平衡胞経路に含まれる腹部固有介在神経 proprioabdominal interneurons が、これに関与する可能性がもっとも高いと考えられる。

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

Neuronal Mechanisms Underlying the Hierarchical Control of Uropod Steering Behavior During Walking in Crayfish.

(歩行運動遂行中のザリガニ尾扇肢舵取り運動
における階層的制御の神経機構)

動物行動の神経機構に関する研究は、近年、急速に進み、感覚刺激による行動制御機構が、多様な動物実験系で明らかになりつつある。これまでの研究では、主として、実験者によって制御された感覚刺激に対する中枢・運動系応答の解析が行われている。しかし、自然状態の動物では、感覚刺激が単独で与えられるケースは稀である。感覚情報は、時々刻々変化する動物の行動状態に関する中枢および末梢性情報と統合されることによって、適応的な行動制御を行うことが可能となる。このような行動文脈依存性の情報処理の神経機構については、現在ほとんど知見が得られておらず、その解明が待たれている。

本論文は、アメリカザリガニ*Procambarus clarkii* Girardの歩行運動遂行中の姿勢制御を実験系として用い、その神経機構を行動生理学的に明らかに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。姿勢制御のための反射は、体の傾きによって、ザリガニのほぼすべての付属肢で引き起こされる。この反射は、歩行運動など特定の行動遂行中にのみ刺激によって引き起こされるという階層的な促通制御を受ける。本論文は、姿勢反射の階層的制御が、歩行運動遂行に伴う中枢性の持続的興奮入力と感覚性興奮入力のシナプス加算によることを実験的に証明し、さらにこのシナプス加算が腹部神経系内の複数箇所において行われるという多段階ゲーティングのメカニズムを細胞レベルで明らかにした。

実験では、ザリガニが歩行運動遂行中に、足盤傾斜による尾扇肢の姿勢反射を引き起こすことができ、なおかつこれら行動の遂行中に尾扇肢運動系の中枢神経細胞にガラス管微小電極を刺入して、そのシナプス活動を記録することが可能なトレッドミル装置を開発した。筋電図解析により、足盤傾斜に伴う歩脚自己受容器から尾扇肢運動系への感覚入力、やはり姿勢反射を制御することが知られている平衡胞入力と較べて一過性の時間経過を示すことが判明した。しかしシナプス接続の相対的強度は、自己受容入力の方が平衡胞入力よりも大きい。歩行運動中の姿勢反射は、基本的に歩脚入力により制御される。細胞内電極により調べた結果、歩行運動遂行中、尾扇肢の運動神経およびこれを支配するノンスパイキング介在神経(NSI)では、持続性の膜電位変化が記録された。運動神経はすべて持続性脱分極を示したが、この脱分極の形成には、興奮性入力のみならず、抑制性入力も関与することが判明した。いずれの入力もNSIを介して運動神経に伝えられる。一

方、足盤傾斜に対しては、静止中の運動神経では閾値下の興奮性応答がみられ、歩行運動遂行中は、持続的脱分極に重畳する形で閾値を越える増強された興奮性応答が記録された。この結果は、歩脚自己受容入力、歩行運動遂行に依存しない経路と依存する経路の両者によって尾扇肢運動系に伝えられることを示す。この中、非依存性経路からの入力、運動神経で、歩行運動遂行に伴う持続性興奮入力とシナプス加算することにより、筋運動出力に変換される。また、運動神経では、足盤傾斜の方向に応じて、興奮性入力のみならず過分極性の抑制入力も記録された。さらに、尾扇肢体表からの運動神経への機械感覚入力には、歩脚自己受容入力のような歩行時の増強がみられなかった。一方、NSIでは、静止時には足盤傾斜に対する応答が全く記録されず、歩行運動時にのみ明確な応答が確認された。

以上の結果は、運動神経・NSIの上流にも、歩脚自己受容入力と歩行に伴う持続的興奮入力とのシナプス加算によるゲート部位が存在することを示している。歩行運動による姿勢反射の促進的制御は、胸部から腹部最終神経節の尾扇肢運動神経に至る経路の複数の部位での多段階ゲーティング機構によって、歩脚自己受容入力、歩行運動遂行時にのみ選択的に運動制御系に伝達されるというメカニズムに基づく結論される。また、歩行時の運動神経にみられた中間的な背景興奮性は、足盤傾斜の方向に応じてさらなる興奮および抑制入力を効果的に受け取ることで、運動の最大限の自由度を保証するためのものであると考えられる。

これを要するに、著者は、自然状態での歩行運動遂行中の姿勢制御機構を、はじめて細胞内記録法による中枢細胞のシナプス活動の解析により明らかにした。行動の階層的制御は、個体レベルでの多様な行動レパートリーを適応的に関連づけて維持するための重要な制御様式であり、その細胞レベルのメカニズムに関してあらたな知見を加えた本研究は、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。