

学 位 論 文 題 名

Neuroethological studies on the escape behavior
elicited by mechanical stimulation of
the hindwing in cricket

(コオロギの後翅機械刺激により惹起される
逃避行動に関する神経行動学的研究)

学位論文内容の要旨

近年、動物の行動とそれを支配する神経機構の解析、研究は学習、記憶などの分野で大きく進展してきた。学習、記憶の結果が最終的に運動出力として発現する際には幾つかの運動様式の中から周囲の環境条件に最適なものを選択する必要がある。そこで本研究では、動物の行動を理解するうえで重要な行動の発現とその際の運動様式選択機構の解析を行ってきた。中でも、現在まで解析対象にしている逃避行動は全ての動物において生命の維持に不可欠であり、また、それは多くの場合は基本的には反射的行動である。そのため行動発現の有無の判別も容易であり、行動発現にかかる時間も比較的短い。そのため多くの生物で運動機構解析のモデルとして用いられてきた。特に昆虫は体の小ささと比較的単純な神経系をもつことからその行動は神経行動学的解析の好対象になっている。そこで本研究では、実験動物として、施設内での飼育が容易で、かつ多くの行動パターンのレパートリーを示し、個々のニューロンの識別も可能であるという理由から、フタホシコオロギ *Gryllus bimaculatus* を用いた。本来は飛翔器官である後翅が感覚器官として機能することに着目し、後翅末端を機械刺激することによって解発される逃避行動について神経生物学的な解析を行った。

- 1) 自由行動条件下・拘束条件下におけるVTR解析による行動実験、行動遂行中の筋電位および感覚神経束の電気的活動を記録・解析した結果、逃避行動の運動パターンの発現度合いは、刺激強度の増大とともに増加した。機械刺激直後から発現するこの運動パターンは、後肢伸展による跳躍運動とそれに続く歩行運動により構成されることが明らかになった。そしてこの跳躍運動の運動パターンは、他の直翅目昆虫で知られている跳躍とは異なった肢の運動パターンにより構成されていた。また、この機械刺激時には、後胸神経節の第二神経根から感覚神経の電気的活動が細胞外記録法により観察された。
- 2) これらの結果に基づきこの感覚刺激の受容器を特定するため、光学顕微鏡、走査型電子顕微鏡による形態学的解析、及び後肢翅脈の部分切除実験を行った。後翅の部分切除実験により機械刺激を受容する部分は特に第7・第8翅脈とそれらの翅脈の間の翅室の背側表面であることが判明した。これら翅脈、翅室の背側表の光学顕微鏡および走査型電子顕微鏡による観察から後翅翅脈表面に形態の異なる3種の感覚子 (type I-III) の存在が確認された。Type Iは糸状感覚子、type IIIは毛状感覚子であるが、type IIは、毛軸が捻れ、クチクラ表面が滑らかである外部形態の特徴から新型の機械感覚子であることが判明した。またその大きさもtype I, IIIとは有意に異なった。機械刺激を受容する第7・第8翅脈の末梢側1/3とそれらの翅脈の間の翅室の背側表面には極めて多

数の type II が存在する一方で type I, III は少数であることが判明した。この結果、後翅末梢部位を機械刺激した際に刺激を受容する感覚子は type II 感覚子である可能性が強まった。更に細胞外記録法を用いた機械感覚子内部に存在する求心神経の電氣的活動の解析と組織学的研究から後翅翅脈上に存在する機械感覚子の神経繊維は、第 2 神経根第 1 側枝を経由して後胸神経節に終末している。これらの感覚神経は 10Hz 以上の刺激に応答し、また刺激には方向性があった。この方向性は感覚子が外部から機械刺激を受けて変位する方向に一致した。この機械感覚子の求心性繊維群は伝導速度が約 1.4m/s と他の既知の毛状感覚子や鐘状感覚子のそれよりも小さいことが判明した。

以上の結果は後翅末梢に存在する type II 感覚子により機械刺激が受容され、その刺激により跳躍に始まる一連の逃避行動が解発される可能性を示した。

- 3) 次に、この作業仮説を基に後翅からの機械感覚情報を統合・伝達するニューロンの存在を仮定し、同定を行った。ガラス管微小電極をもちいた細胞内記録法、及び蛍光色素（ルシファーイエロー）を用いた細胞染色と共焦点レーザー顕微鏡による連続光学切片の記録・切片の画像処理による各々のニューロンの 3 次元構造の再構築を含めた一連の神経生理・解剖学的解析において、後翅機械感覚系と歩行運動系をつなぐ経路の 1 次中枢となる後胸神経節内に機械感覚信号を受容する多数のニューロンを確認した。それらについては以下のように分類された。イ) 後胸神経節内で後翅機械感覚系からの入力を受けるニューロンは局所性介在ニューロン、投射性介在ニューロン、運動ニューロンを含んでいた。ロ) 局在性ニューロンにはスパイク発射型と非発射型が存在したが、発射型が興奮性入力を主に受けるのに対し、非発射型では抑制性の入力を受けるものが多かった。これらのニューロンには入力時の潜時が 50ms を超えるものも存在した。形態的には両側に突起を伸ばすものが含まれる。また片側の神経節中心部のみで突起を広げるものがあった。ハ) 投射性介在ニューロンには上行性に軸索を伸ばすものが多く、この中には興奮性入力を受けるものも抑制性入力を受けるものも含まれた。ニ) 運動ニューロンでは閾値下の入力を受けるものが大部分であった。

これらの結果はポリシナプティックで比較的長い情報処理経路の存在を示唆し、感覚情報は一度胸部から外部に出力されることを意味する。これらの結果からこの感覚運動系を制御する神経機構には後胸神経節内に存在する局所性神経回路のみならず、上位の神経節内のニューロンを含む包括的な神経回路の存在が想定できる。

これら一連の解析により、本研究で扱った逃避行動が、既知の跳躍運動とは区別され、後翅の末梢部位からの機械刺激のみで解発されることを示した。また、この運動を駆動する神経機構については、後翅からの感覚情報は他体節に伝達されること可能性を指摘し、後肢の運動ニューロンが活性化するには、翅からの感覚入力以外の他の系からの入力が必要であることを実験的に明らかにした。

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

Neuroethological studies on the escape behavior elicited by mechanical stimulation of the hindwing in cricket

(コオロギの後翅機械刺激により惹起される
逃避行動に関する神経行動学的研究)

近年、動物行動を制御する神経機構の解析、研究は学習、記憶などの分野で大きく進展してきた。学習、記憶の結果が最終的に運動出力として発現する際には、幾つかの運動様式の中から周囲の環境条件に最適なものを選択する必要がある。しかし行動の選択とその発現決定の中枢機構については、不明の点が多く残されている。本研究では、フタホシコオロギ *Gryllus bimaculatus* を実験動物として用い、これまでによく知られている気流刺激に対して起こる逃避行動とは全く異なる新しいタイプの逃避行動の神経行動学的な解析を行った。この行動は、後翅の機械刺激によって惹起される。本来は飛翔器官である後翅が感覚器官として機能することに着目し、後翅末端を機械刺激することによって解発される逃避行動について、特に、その発現決定のメカニズムを生理学的に調べた。

1) 自由行動条件下・拘束条件下におけるVTR解析による行動実験、行動遂行中の筋電位および感覚神経束の電気的活動を記録・解析した結果、逃避行動の運動パターンの発現度合いは、機械刺激の種類によって異なった。機械刺激直後から発現するこの運動パターンは、後肢伸展による跳躍運動とそれに続く歩行運動により構成されることが明らかになった。この跳躍運動の運動パターンは、他の直翅目昆虫で知られている跳躍とは異なった肢の運動パターンにより構成されていた。また、この機械刺激時には、後胸神経節の第2神経根から感覚神経の電気的活動が細胞外記録法により観察された。

2) 逃避行動を惹起する感覚刺激の受容器を特定するため、光学・走査型電子顕微鏡による形態学的解析、及び後肢翅脈の部分切除実験を行った。部分切除実験によ

り機械刺激を受容する部分は特に第7・8翅脈とそれらの翅脈の間の翅室の背側表面であることが判明した。これら部位には、形態の異なる3種の感覚子の存在が確認された。その中で type II と名付けたものは、これまでに報告のない新型の機械感覚子であった。またその大きさも他とは有意に異なった。機械刺激を受容する後翅部分には極めて多数の type II が存在する一方で他の感覚子は少数であった。この結果から、後翅末梢部位の機械刺激を受容する感覚子は type II であると結論した。この機械感覚子の神経繊維は、第2神経根第1側枝を経由して後胸神経節に終末している。10Hz以上の刺激に応答し、伝導速度が約1.4m/sと他の既知の毛状感覚子や鐘状感覚子のそれよりも小さいことが判明した。

3) 後翅からの機械感覚情報を統合・伝達するニューロンの存在を仮定し、その同定を行った。ガラス管微小電極を用いた細胞内記録法及び蛍光色素を用いた細胞内染色と共焦点レーザー顕微鏡による各々のニューロンの3次元構造の再構築を含めた一連の神経生理・解剖学的解析において、後翅機械感覚系と跳躍・歩行運動系をつなぐ経路の1次中枢となる後胸神経節内に、type II 感覚子からの信号を受容する局所性介在ニューロン、投射性介在ニューロン、運動ニューロンを確認した。局在性ニューロンには、スパイク発射型と非発射型が存在したが、発射型が興奮性入力を主に受けるのに対し、非発射型では抑制性の入力を受けるものが多かった。これらのニューロンには入力時の潜時が50msを超えるものも存在した。形態的には両側性に、または片側性に、突起を広げるものが見られた。投射性介在ニューロンには上行性に軸索を伸ばすものが多く、この中には興奮性入力を受けるものも抑制性入力を受けるものも含まれた。運動ニューロンでは閾値下の入力を受けるものが大部分であった。これらの結果は多シナプス的な情報処理経路の存在を示唆し、感覚情報は一度胸部から外部に出力される可能性を示唆する。後肢から跳躍逃避に至る感覚運動系を制御する神経機構には、後胸神経節内に存在する局所性神経回路のみならず、上位の神経節内のニューロンを含む包括的な神経回路の存在が想定できる。

これら一連の解析結果を要するに、筆者は、後翅機械刺激で惹起される逃避行動が、既知の跳躍運動とは全く異なる運動パターンから構成される新たに発見された行動であること、機械刺激を受容する感覚子もまた新規に発見された特徴的なものであること、さらにこの行動を駆動する神経機構について、後翅からの感覚情報が他体節に伝達される可能性を指摘し、後肢の運動ニューロンが活性化して、逃避ジャンプの発現が決定されるには、翅からの感覚入力以外の他の系からの入力が必要であることを実験的に明らかにしたものであり、動物行動発現の選択・決定機構に関する行動生理学的理解の拡張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。