

学 位 論 文 題 名

Neuronal mechanisms underlying behavioral
context-dependent posture control in crayfish,
Procambarus clarkii

（ザリガニにおける行動文脈依存的姿勢制御の神経機構）

学位論文内容の要旨

脊椎動物、無脊椎動物に関わらず多くの動物は姿勢を維持するため、平衡反射運動を示す。この運動は主に平衡感覚情報によって制御されているが、体性感覚や視覚情報によっても制御されることが知られている。さらに、平衡反射運動は単純に感覚情報によってのみ制御されるだけでなく、動物がどのような行動を遂行しようとしているのか、または遂行しているのかといった、行動文脈に依存的な修飾を受けることも知られている。このような、異種感覚情報の統合処理機構ならびにその統合処理の行動文脈依存的な修飾機構を明らかにすることは、動物の行動、特にその柔軟性を理解する上で重要である。

ザリガニの平衡反射運動は平衡胞、歩脚自己受容器および視覚入力によって制御され、尾扇肢や歩脚、眼柄の運動を惹起する。加えて、この運動は歩行運動や腹部伸展運動などの行動文脈に依存的に実に多様な修飾を受ける。ザリガニの平衡胞感覚処理は詳細な研究がなされており、その中枢神経機構に関しては多くの知見が得られている。平衡胞の感覚ニューロンはザリガニ脳内で複数の局所介在ニューロンへとシナプスし、下行性介在ニューロンや巨大スパイク非発射型介在ニューロン(NGIs)を介して眼柄や尾扇肢などの運動を制御していると考えられている。そのなかでも NGIs は詳細に研究されており、このニューロン群が眼柄の運動ニューロンに対する pre-motor であり、歩脚自己受容器や視覚入力の影響をうけることが知られている。しかしながら、NGIs 以外では中枢神経機構でどのように他の感覚情報との統合が行われているのか、行動文脈によってどのような修飾を受けるのかは明らかにされていない。

本研究はザリガニ平衡反射運動をモデルとし、その中枢神経系における行動文脈依存的修飾機構を明らかにすることを目的に行われた。まず、自由行動下のザリガニより神経活動や筋活動を記録するため、光テレメトリシステムを開発した。次にこの光テレメトリシステムを用いて、自由行動下のザリガニより平衡胞感覚性の下行性介在ニューロン活動を記録し、その行動状態における変化を解析した。これらの結果をもとに細胞内記録を用い、個々の下行性介在ニューロンのシナプス活動が行動状態によってどのように変化するかを明らかにし、最後に局所神経回路を調査し、異種感覚情報の統合処理と行動文脈依存的修飾機構を解析した。

平衡胞感覚性の下行性介在ニューロンは複数存在することが知られているが、本研究では容易に記録・同定が可能な C_1 ニューロンの活動を記録した。 C_1 ニューロンは平衡胞感覚だけでなく、歩脚自己受容器や視覚入力を受けていることが知られており、尾扇肢の舵取り運動に関与すると考えられている。このニューロンの活動を解析したところ、歩脚自己受容器入力存在下では平衡入力に対する応答は有意に増加することが確認されたが、足盤が存在しない条件では、尾扇肢舵取り運動を増強する歩脚運動や腹部伸展

運動によっては変化しないことが明らかになった。しかしながら、足盤が存在する条件では、歩行運動や歩行運動中における腹部伸展運動は C_1 ニューロンの活動に大きな影響を与えることが確認できたが、いずれの運動においても C_1 ニューロンの平衡胞入力に対する応答は減少していた。このことから、尾扇肢舵取り運動は C_1 ニューロンのみによって制御されているわけではないことが予想される。このことは、平衡胞感覚性下行性介在ニューロンが複数存在することからも支持される。

そこで、個々の下行性介在ニューロン活動に対して、歩脚自己受容器入力や運動中枢からの出力がどのような効果を示すのかを調査した。ガラス管微少電極による細胞内記録法を適用しながら安定して平衡胞を刺激するため、平衡石をフェライトに置換したザリガニを用いた。その結果、14個の平衡胞感覚性下行性介在ニューロンが同定された。これらのニューロンの半数が運動中枢からの出力のみが関与していると考えられる、空中での歩脚運動中に応答が修飾された。3つのニューロンでは歩脚が接地し、歩脚自己受容器からの入力が存在する条件下で応答の変化がみられた。歩脚自己受容器入力や運動出力によって応答の修飾を示さなかったニューロンは一つだけであった。しかしながらこれらの応答特性と脳内での投射様式にはなんら相関がみられなかった。次に、平衡胞感覚を処理する脳内局所回路において歩脚自己受容器入力や運動出力がどのように統合されているのかを明らかにした。まず、脳内局所介在ニューロンをその形態的特徴から Type-I から IV の4群に分類した。これらのニューロン群のうち Type-IV ニューロン群以外は平衡胞感覚ニューロンから直接シナプス入力を受けていると考えられる。Type-I と III ニューロン群は平衡胞感覚情報を中大脳から前大脳へと連絡すると考えられ、Type-II ニューロン群は左右の平衡胞感覚を統合するニューロン群であると相定される。Type-IV ニューロン群は前大脳にのみ樹状突起を投射していることから、この領域での統合処理や運動出力に関与していると考えられる。Type-I ニューロン群で構成される経路は歩脚自己受容器入力の影響を受ける経路と受けない経路が平行に存在し、歩脚自己受容器入力を受ける経路は反対側の平衡胞からの入力を受けていることが確認できた。この経路は平衡胞除去後における眼柄姿勢の回復に関与していると考えられる。さらに、Type-IV ニューロン群以外は空中での歩脚運動時になんらの影響も受けなかったことから、運動出力との統合は Type-IV ニューロン群で行われていることが示唆される。

本研究の結果より、ザリガニの平衡反射運動に関わる神経機構が多段階の神経機構で行われており、感覚情報処理を行う過程と運動出力との統合がなされる過程が連続していることが明らかになった。さらに、運動出力との統合が末梢における運動制御系だけではなく、より上位の過程でも行われていることが確認された。今後は前方歩行や後方歩行などの行動の違いによってこの修飾の機構がどのように異なるのかについて明らかにされなければならない。さらに複数の平衡胞感覚性下行性介在ニューロンがどのようにザリガニの平衡反射運動を制御しているのか、その末梢における神経回路に対する出力の効果を明らかにしていくことが重要であろう。

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 behavioral context-dependent posture control in crayfish, *Procambarus clarkii*

(ザリガニにおける行動文脈依存的姿勢制御の神経機構)

動物行動を人工物の行動と区別する特徴として、動物が周囲の状況に合わせて行動発現の確率及びパターンを変化させる柔軟性があげられるが、さらに動物が自分の行動状態に応じて同一刺激・状況に対して異なった行動応答を示す適応性も、動物行動に極めて特徴的な性質としてあげられねばならない。就中、体傾斜によって惹起される姿勢制御はすべての行動遂行のための基本要件であり、そのため、行動文脈と密接に関連して遂行される。しかし、行動遂行中の動物からの中枢活動記録が技術的に困難なため、これまで、その中枢メカニズムの研究はほとんどなされてこなかった。本研究では、新たに開発した光テレメータ装置による行動遂行中の動物からの細胞外記録実験と、無麻酔全体標本の脳からの細胞内記録・染色実験とにより、行動文脈依存性姿勢制御の中枢機構を解析した。

1) 水棲・海産動物でも安定して使用可能な光テレメータ装置を本学電子科学研究所と共同で開発し、水中歩行中のアメリカザリガニに適用することができるよう試作と実験を繰り返し、最終的に実用化に成功した。最大4チャンネルの細胞外記録(筋電図を含む)の約50cm四方への赤外光パルス送信が数時間以上に渡って連続的に可能である。その大きさおよび水中重量は、動物の自由な行動を妨げるものではない。通常の有線による増幅実験と同時比較して、その周波数特性およびS/N特性を明らかにした。

2) 傾斜水底面を歩行中のザリガニから、脳から下行する平衡感覚性介在ニューロンの細胞外記録を行い、光テレメータ装置を用いて、行動状態と照合しながら解析した。その結果、ザリガニの水底歩行時に腹部屈曲運動を遂行している間は、介在ニューロンのスパイク活動が体傾斜角度を忠実に表示しているのに対して、腹部伸

展運動遂行中は、介在ニューロン活動は統計的に有意な差異を示さなかった。この介在ニューロンは、歩脚が水底から離れた状態では、腹部伸展中にも体傾斜角度を表示することが知られているが、歩行中のその活動については、光テレメータ装置を用いた解析ではじめて明らかとなった。

3) テレメータ実験から、脳から胸部・腹部神経節に下行する平衡感覚性介在ニューロンの活動が動物の行動状態に大きく影響されることが判明したため、その脳内シナプス機構を解析する目的で、ガラス管微小電極法を脳内ニューロンに適用した。その結果、14種類の下行性介在ニューロンを同定し、その応答修飾特性を明らかにした。これらの介在ニューロンには、体傾斜に対するその応答が行動状態によって影響を受けるものとまったく影響を受けないものとがあり、それらが腹随内に並列して存在すること、多くのニューロンが樹状突起を平衡胞感覚中枢である中大脳副嗅覚葉に投射していたが、さらに高い頻度で前大脳内側ニューロパイルへ投射が見られ、中には後者にのみ投射する平衡感覚性介在ニューロンが存在した。

4) 中大脳から前大脳へ平衡感覚情報を伝達する経路を明らかにする目的で、脳内局在性の平衡胞感覚性介在ニューロンをガラス管微小電極によって検索し、4種類を同定した。タイプ I は中大脳副嗅覚葉と前大脳内側ニューロパイルに同側性または対側性に、タイプ II は左右の副嗅覚葉に、タイプ III は両側中大脳と前大脳に、また、タイプ IV は前大脳内にのみ、それぞれ樹状突起を投射していた。これらの中でタイプ I は、動物の行動状態に依存して平衡胞応答が修飾されるものと、全く修飾を受けないものとの2種に大別された。タイプ II および IV の活動は行動状態に大きく依存したが、タイプ III では行動状態による影響は観察されなかった。これらの結果は、平衡感覚情報処理が、平衡胞感覚神経と副嗅覚葉で直接シナプス接続する二次ニューロンの早い段階で行動状態によって影響されること、また、行動状態による影響を受ける経路と受けない経路の並列構成が、二次ニューロンの段階から下行性の前運動性経路に至る脳内全過程にわたって維持されること、などを示している。

これら一連の解析結果を要するに、筆者は、自然状態での行動文脈依存性の姿勢制御が、行動には影響されず安定的に平衡胞感覚情報を運動系に伝達する神経経路に並列的に付け加えられた行動依存性の神経経路の働きに基づくこと、また、この並列構成が脳内の平衡胞感覚情報処理の初期段階から始まっていることなど、姿勢制御の脳内シナプス機構に関するあらたな知見を実験的に明らかにしたものであり、自然状態での動物行動制御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。