

Title	Functionally segregated escape networks in zebrafish hindbrain
Author(s)	小橋, 常彦
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/1458
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	小橋 常彦
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 23089 号
学位授与年月日	平成21年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学位論文名	Functionally segregated escape networks in zebrafish hindbrain (ゼブラフィッシュ後脳の逃避運動回路は感覚入力によって使い分けられる)
論文審査委員	(主査) 教授 山本 亘彦 (副査) 教授 村上富士夫 教授 近藤 寿人 教授 藤田 一郎 教授 小田 洋一

論文内容の要旨

脊椎動物の脳幹に存在する網様体脊髄路ニューロン(Reticulospinal neuron, RSN)は、感覚入力を統合し脊髄回路へ運動制御信号を送るという中枢神経系の基本的な情報処理機構を備えており、ヤツメウナギからヒトに至るまで系統発生を通じて保存されている。特にゼブラフィッシュ後脳のRSNは、その配置が後脳の分節構造と明確に対応し、全てが形態学的に同定できる点から、後脳の構造が脳回路の機能にどう反映されるかを細胞レベルで理解することに適すると期待される。後脳RSNは片側に約100個のニューロンが前後方向に7つの分節に分かれて存在する。第4分節に左右一対存在するマウスナー(M)細胞はずば抜けて大きな形態をもち、侵害刺激から遠ざかる逃避運動を開始すると考えられてきた。加えて第5, 6分節にありM細胞と同じ形態学的特徴をもつ2つのRSN(MiD2cmとMiD3cm)もまた、破壊の効果や侵害刺激に対する応答から逃避運動の制御に関わると示唆されている。しかし実

際の逃避運動中にこれら3つの形態学的相同ニューロンがどのように活動するかは不明であった。そこで申請者は、逃避運動とRSNの活動との相関を直接調べるため、逃避運動中のゼブラフィッシュ稚魚(受精後120-200時間, hpf)からRSNの活動を*in vivo*カルシウム(Ca²⁺)イメージングで計測した。

まず、頭部を固定した稚魚のRSNを共焦点レーザー顕微鏡でCa²⁺イメージングしながら、固定されていない尾の動きを高速カメラで撮影する同時計測システムを新たに開発し、それを用いて逃避運動中のM細胞の活動を調べた。水流刺激を耳胞(内耳の原基)に与えてから短い潜時(<6ms)で開始する逃避運動は、必ず刺激側のM細胞の単発活動電位を伴うことを見出した(M型逃避)。ところが一部の試行では、M細胞の発火を伴わなくとも逃避運動が起こることも見出した(非M型逃避)。非M型逃避は、尾の屈曲速度はM型逃避と同じだがM型逃避より遅れて開始した(>6ms)。さらに、M細胞をレーザーで選択的に破壊すると長潜時の逃避運動しか起こらなくなったため、M細胞が働かなくてもよく似た逃避運動は可能だが、逃避運動を最短潜時で開始するためにはM細胞が必要であると結論した。

次に、異なる深さにあるニューロンを同時にイメージングできる光学系を上とは別に開発し、M細胞と相同ニューロンが逃避運動中にどのように活動するかを調べた。その結果、MiD3cmはM型逃避中に1, 2回発火するが、興味深いことに、非M型逃避中にさらに多く発火することが示された。すなわち、M細胞と相同ニューロンは逃避運動の開始に関して相補的に働くと考えられた。

さらに、M型逃避と非M型逃避がどう使い分けられるのかを知るために、逃避運動を引き起こす感覚入力に注目した。耳胞を破壊して聴覚入力を阻害すると、潜時が長い非M型逃避しか起こらなくなった。このときMiD3cmは大きな応答を示した。一方、頭部の触覚入力を伝える三叉神経節ニューロンを破壊すると、M型逃避は誘発されても、非M型逃避はほとんど起こらなくなった。以上の結果は、ゼブラフィッシュには2種類の逃避運動回路があり、それぞれが異なる感覚入力で駆動されることを示している。すなわち、音や振動刺激は聴神経を介してM細胞を1回発火させて最短潜時で逃避運動を駆動する一方、頭部への触刺激は三叉神経を活動させ、MiD3cmの複数発火を介して非M型逃避を駆動すると結論された。

最後に、このような逃避運動回路が機能的に成熟する過程を調べた。孵化直後(50-65 hpf)のゼブラフィッシュは触刺激からは逃げるが音や振動刺激には80 hpfまで応答しないことに着目して、発達初期の逃避運動における感覚入力とM細胞の寄与を調べた。成熟型(>120 hpf)の逃避運動とは異なり、孵化直後では、三叉神経節を破壊すると頭部の水流刺激で起こる逃避運動が消失した。一方耳胞やM細胞を破壊しても運動開始に影響がなかった。したがって、この時期の逃避運動は触刺激によって誘発され、三叉神経を介してM細胞以外の後脳ニューロンの活動によっておこると考えられる。

以上の結果より、発達初期には触れられなければ逃げられなかったゼブラフィッシュは、聴覚入力を獲得しM細胞を効率的に駆動させるようになって、危険の接近を知らせる音や振動からなるべく早く逃げられる回

路を形成すると考えられる。「後脳分節に繰り返される形態の似たRSNは同じ運動の制御に寄与するが、異なる感覚入力を使い分けられるように発達する」という解釈は、脊椎動物がさまざまな刺激に対して応答できる運動制御回路を形成する過程を示しているのではないかと考える。

論文審査の結果の要旨

申請者は脊椎動物の後脳にある網様体脊髄路 (RS) ニューロンがどのように運動を制御するかを調べるために、逃避運動中のゼブラフィッシュ稚魚からRSニューロンのカルシウム・イメージングを行い、ニューロン活動と運動との対応を調べた。その結果、最大のRSニューロンであるマウスナー (M) 細胞はもっとも早い逃避運動を駆動することと、M細胞は発火しない代わりにM細胞と形態の似たRSニューロンの大きな活動を伴う、よく似た逃避運動が起こることを見出した。さらに2つの逃避運動はそれぞれ聴覚と触覚という異なる感覚入力によって引き起こされることを示し、とくに聴覚誘導性の逃避運動は、聴覚入力によってM細胞を活動するように発達することで獲得されると示唆された。本論文は、「類似した運動の制御には形態の似たニューロンが関わり、異なる感覚入力があるニューロンを使い分けるように発達する結果、様々な感覚刺激に対する運動が獲得される」という、運動制御システムの成り立ちに関する新しい概念を提唱した。以上のことより、本論文は学位論文に値するものと認める。