

Title	Functional Organization among Segmentally Homologous Reticulospinal Neurons in Teleost Hindbrain
Author(s)	中山, 寿子
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/45058">http://hdl.handle.net/11094/45058</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

氏名	中 山 寿 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 18839 号
学位授与年月日	平成 16 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 基礎工学研究科システム人間系専攻
学位論文名	Functional Organization among Segmentally Homologous Reticulospinal Neurons in Teleost Hindbrain (硬骨魚後脳にみられる分節間相同ニューロンの機能分化と機能結合)
論文審査委員	(主査) 教授 村上富士夫 (副査) 教授 藤田 一郎 教授 大澤 五住 助教授 小田 洋一

#### 論 文 内 容 の 要 旨

脊椎動物の脳の基本構造のひとつは分節である。後脳は発生初期、一過性に吻尾方向に 7 または 8 つの膨らみ (ロンボメア) に分節化する。硬骨魚後脳の網様体脊髄路ニューロン群 (RSNs) は各ロンボメアの腹側中央部で発生し、成魚においても分節性が保たれる。RSNs は多種感覚入力を統合し脊髄へ出力する中継ニューロンである。ゼブラフィッシュとキンギョでは、RSNs は吻尾方向に並んだ分節構造 (r1-r7) を示し、隣接する分節に形態の類似した“分節間相同ニューロン”が反復する。r4 には逃避運動を誘発するマウスナー (M) 細胞が左右一対存在する。M 細胞の相同ニューロンは r5 の MiD2cm と r6 の MiD3cm であり、M 細胞とともに M-series と呼ばれる。MiD 2 cm、MiD 3 cm も逃避運動に関与すると考えられているが生理学的な知見はほとんどない。

本研究では、M-series の機能的類似性と相違を明らかにすることを目的とした。キンギョ成魚を用いて、M-series の感覚入力、発火様式および相互結合を主に細胞内記録で調べた。その結果、M-series はどれも聴神経から興奮性入力を受けることが明らかになった。一方、脱分極通電に対する発火応答は M-series 間で大きく異なった。すなわち、M 細胞は脱分極開始時に単発の活動電位のみ発生したのに対し、MiD 2 cm と MiD 3 cm は脱分極に応じた周波数で連続発火した。チャンネル阻害実験から、M 細胞の単発発火は M 細胞特有の反回性抑制とデンドロトキシン感受性のカリウムチャンネル (KdTX) によって制御されることが示された。KdTX サブユニットである Kv1.2 に対する免疫染色では、M-series のうち M 細胞でのみ Kv1.2 の発現が見られた。次に、M 細胞と相同ニューロンから同時記録を行い両者間の結合を調べると、M 細胞から MiD 2 cm および MiD 3 cm へ一方向性の抑制性投射が見出された。以上から、M 細胞に加えて MiD 2 cm と MiD 3 cm も音刺激で誘発される逃避運動に関与する可能性が支持された。発火様式の相違から、各細胞が入力の異なる側面をコードすると推測できる。M 細胞は刺激の強度と開始を全無的にコードし、MiD 2 cm と MiD 3 cm は入力量に応じた出力を脊髄に送ると考えられる。このように、分節間相同ニューロンが相互結合によって組織化し共通の感覚入力を維持する一方で、異なる興奮性を獲得したことが逃避運動に多様性をもたらしたのであろう。

## 論文審査の結果の要旨

脊椎動物の脳の基本構造のひとつは分節である。脊椎動物の脳は発生初期に吻尾方向に3つの膨らみ(前脳・中脳・後脳)に領域化し、各領域がさらに分節に分かれる。後脳は発生初期、一過性に7あるいは8つのロンボメアに分節化する。硬骨魚後脳の網様体脊髄路ニューロン群(RSNs)は各ロンボメアの腹側中央部で発生し、成魚においても分節性が保たれている。RSNsは多種感覚入力を統合し脊髄へ出力する中継ニューロンである。ゼブラフィッシュやキンギョでは、RSNsは吻尾方向に梯子状に並んだ分節構造(r1-r7)を示し、隣接する分節に形態の類似した“分節間相同ニューロン”が反復する。第4分節(r4)には逃避運動を誘発するマウスナー(M)細胞が左右一対存在する。M細胞と同様に軸索を対側脊髄に伸ばし、類似した樹状突起パターンをもつRSNsがr5とr6に左右一対ずつ存在し(MiD 2 cm、MiD 3 cm)、M細胞とともにM-seriesと呼ばれる。MiD 2 cmとMiD 3 cmも逃避運動に関与すると考えられているが生理学的な知見はほとんどない。本論文では、M-seriesの機能的類似性と相違を明らかにすることを目的としており、キンギョ成魚を用いて、M-seriesの感覚入力、発火様式および相互結合を調べた。記録細胞は細胞内染色して形態学的に同定した。まず、蛍光トレーサーを用いてRSNsと聴神経を標識した結果、r4-r6のRSNs付近へ投射する聴神経が観察された。また、M-seriesから細胞内記録を行うと、聴神経の電気刺激と音刺激によって誘発される興奮性シナプス後電位が記録された。一方、脱分極通電に対する発火応答はM-seriesの中で大きく異なった。すなわち、M細胞は脱分極開始時に単発の活動電位のみ発生したのに対し、MiD 2 cmとMiD 3 cmは脱分極に応じた周波数で連続発火した。チャンネル阻害実験から、M細胞の単発発火はM細胞特有の反回性抑制とデンドロトキシン感受性のカリウムチャンネル(KDCTX)によって制御されることが示された。KDCTXサブユニットのひとつであるKv1.2に対する免疫染色では、M-seriesのうちM細胞でのみKv1.2の発現が見られた。次に、M細胞と相同ニューロンから同時記録を行い両者間の結合を調べると、M細胞からMiD 2 cmおよびMiD 3 cmへ抑制性介在ニューロンを介した抑制性投射が見出された。しかし、逆方向の結合は記録されなかった。以上のように本論文では、M細胞に加えてMiD 2 cmとMiD 3 cmも音刺激で誘発される逃避運動に関与する可能性が支持された。発火様式の相違から、各細胞が入力の異なる側面をコードすると推測される。M細胞は刺激の強度と開始を全無的にコードするのに対して、MiD 2 cmとMiD 3 cmは入力量に応じた出力を脊髄に送るであろう。しかも、M-seriesはM細胞を頂点として階層的に統合される。このように、分節間相同ニューロンが相互結合によってグループ化し共通の感覚入力を維持する一方で、異なる興奮性を獲得したことが逃避運動に多様性をもたらしたと考えられる。

以上のようにマウスナー細胞とその相同ニューロンは、20年来、運動制御機構の研究において注目されてきたにも関わらず、これまでにマウスナー細胞以外のRSニューロンの電気生理学的知見は皆無であったが、本論文では、*in vivo*細胞内記録により初めてマウスナー細胞と相同ニューロンが構成する神経回路網を明らかにした。また、本研究の成果は、魚の逃避運動を制御する運動制御機構の研究に大いに貢献するばかりか、後脳分節に埋め込まれたマウスナー細胞と相同ニューロンの構成と神経回路網の機能の対応が記述されれば、脳の並列処理をその成り立ちから理解する糸口を与えるであろうと思われる。さらに、遺伝子工学的手法の導入によって、相同ニューロンの機能分化を担う分子の探索へと発展させ得、分子から運動までを通した脳の情報処理の理解の発展につながるものである。

本論文は分子から運動までを通した脳の情報処理を解明する上で、有用な知見であると考えられ、博士(理学)の学位論文として価値があるものと認める。