

アメフラシの神経突起成長因子とエラ引っ込み長期感作
○別所親房、石原洋紀、川田宏幸、#柳浦真美子、#中島道夫、#塩野悟(京産大・理・物理、#三菱電機・中央研)

アメフラシのエラ引っ込み長期感作成立には最初期遺伝子(IEG)の発現増加とN-CAMの減少を伴うことが示された(Kandelら)が、感覚神経の形態変化を引き起こす因子と仕組みは全く不明である。アメフラシの長期感作に伴う感覚神経の形態変化をおこす因子と仕組みを明らかにするために、私たちはアメフラシの体液(HI)と条件づけ培地(CM)が神経突起成長作用とシナプス形成能をもつことに注目して実験した。アメフラシの神経節を1%中性プロテアーゼを含む等張L15培養液に入れて19°Cで約17時間処理した後、1%子牛血清アルブミンを含む等張L15液で洗滌し、ピンセットで結合組織を除去した。ガラス微小管で切り出し分散させた神経を、ポリエチレンイミンでコートした多孔プレートのHI、CM、それらのクロマトグラフ画分を加えた等張L15液中で20°Cで数日培養した後、神経突起成長を光学顕微鏡下で観察した。

アメフラシHIの遠心上清を凍結乾燥し、濃縮液をセファデックスG100カラムクロマトグラフにかけ、その溶出パターンを280nmの紫外分光光度計でモニターし、フラクションコレクターで10分画した。最初に出現した小さなピーク付近の分画2、3を加えた培養液で頭部神経の突起成長が高頻度に観察された。分画2、3の濃縮液を0.4% SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動にかけると、分子量約350KDの濃いバンドと約300、260KDの薄いバンドが見られた。還元処理しても3本のバンドの位置は変わらなかったのでサブユニット構造は無いと考えられる。

最終濃度約250nMのセロトニンをアメフラシ体こうに注入し、2時間後に取り出したHIで培養した感覚神経の突起成長率は、海水注入したアメフラシからのHIで培養した場合に比べ少し増加した。さらに体液で細胞培養した感覚神経を最終濃度5nMのセロトニンで1時間半処理した後、洗浄し、HIを含む培養液に入れ経時変化を対照群と比較すると感覚神経の突起分岐が増加した。CMのセファデックスG100カラムクロマトグラフ分画や既知の神経成長因子の作用についても発表する予定である。

C. Bessho, H. Ishihara, H. Kawata, M. Yanaura, M. Nakashima, S. Shiono: Aplysia neurite outgrowth factor and long term facilitation of gill withdrawal.

アメフラシ摂食、吐き出し運動パターンの中核スイッチング機構
長濱辰文(神戸大・理・生物)

食物の摂取や吐き出して見られるリズムカルな口の運動パターンは、中枢内のパターンジェネレータ(CPG)と呼ばれる神経回路網で形成される。これらの運動発現では感覚入力の種類により別個のCPGが駆動するものと考えられるが、このように同種類の筋が効果器として用いられる場合、それらCPG間では次のような関係が考えられる。すなわち2種類のCPGが、(1)全く異なる回路網からなる、(2)回路網の一部を共有する、(3)全く同じ回路網であるが、修飾ニューロンなどの存在により一部のシナプスの伝達効率を変化させて見かけ上異なる回路を形成させるなどである。

今回、アメフラシの唇、または口腔内へ水やアルコールを与えると、それらを吐き出すようなリズムカルな口球の運動が発現した。そこでFree-moving、または前頭部のみからなるSemi-intactな動物を用い、応答時の開口(JO)、閉口(JC)運動ニューロンのリズムカルな放電パターンを摂食時のそれと比較した。その結果、水やアルコール刺激後、最初数サイクルは摂食時のものと全く同じであったが、その後、摂食時に見られるJOに対するJCの放電開始時期の遅れが消失することがわかった。以前、摂食時にこの遅れを形成するニューロンとしてMAというグループを見出した。すなわち、MAはJOへ単シナプス性EPSP、同時にJCへ単シナプス性IPSPを誘発し、二種類の運動ニューロンの放電パターンの差を形成する。そこで吐き出し応答時のMAの放電パターンを摂食時のものと比較したが、MAの放電頻度に顕著な減少は見られなかった。しかし、MAによりJCに誘発されるIPSPの大きさを水刺激の前後で比較したところ減少することがわかった。以上のことより、摂食、吐き出しでは同じCPG回路網が使われているが、吐き出し応答時、何らかの修飾ニューロンにより局所的にMA⇒JC間の伝達効率が減少させられることによりパターンのスイッチがおこることが示唆された。

T. Nagahama: Neural mechanism of switching CPG networks in Aplysia feeding system.

ラット空間認知マップ生成過程における運動パターン解析
三宅美博¹⁾、○岡山弘樹¹⁾、小林 司¹⁾、清水 博²⁾
1)金沢工大(情報工学) 2)金沢工大(場の研究所)

ラットの海馬神経系では空間認知マップに基づいて知覚情報が意味的に統合されると考えられている。しかし、このような意味的情報統合の原理はほとんど解明されていない。そこで我々は空間認知マップの生成プロセスにおけるラットの行動パターンの解析を通して、その原理の解明を試みる。

実験方法としては、図1に示すように、四角い部屋の中央にラットをおき、4コーナーのうち指定したコーナーに移動すれば報酬がもらえる空間ナビゲーション課題を用いた。このとき、図2のようにマップ生成前課題と生成課題を規定し、前課題から生成課題へ変化させた後の行動パターンを解析した。前課題ではコーナー指定を課題の全時間帯において提示するが、生成課題では最初の一定時間だけ提示し行動開始後は提示しない。つまり生成課題では空間的手がかりをもとに指定コーナーを記憶する必要があるのである。具体的には、コーナー指定は白いターゲットをコーナーに提示することで行い、空間的手がかりは部屋の一つの壁に別種類のマークを固定した。また行動計測は、ラットの頭部に付けた色マーカーを画像処理的に解析する方法を用いた。

実験結果として、前課題からマップ生成課題へ変更し一定時間後に、課題達成率が不連続的に上昇するが観察された。この不連続点を境界として前後2領域に分割し行動パターンを解析してみると、行動速度、移動距離、移動時間の時間発展パターンが大幅に異なること、特に行動速度や行動方向のゆらぎの振動数領域が低振動数側へ大幅にシフトすることが明らかになった。

我々は、このような不連続的な変化を空間認知マップの生成の瞬間と対応させることができるのではないかと予想している。つまり情報を意味的に統合する上で、仮説としてのマップ生成によって達成率のみならず行動パターンが不連続的に変化したのではないだろうか。現在、実験的にさらに解析を進めている。

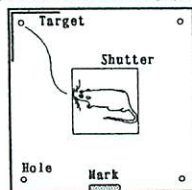


図1. 空間ナビゲーション課題
Target: コーナー指定のための
Shutter: 白い光を中央に照らすため

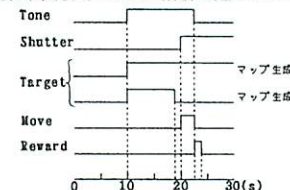


図2. 課題フローチャート
Tone: ラットに投与中であることを知らせる
Shutter: ON している OFF していない
Target: ON ターゲットを提示している
Move: OFF ラットのコーナーへの移動
Reward: ON ターゲットのコーナーに到達し報酬を受け取る
OFF 水が飲んでいる状態

周期的バースト信号に対するイソアワモチペースメーカーニューロンのカオスの応答
○立野勝巳(九工大・情報工学研究科)、林 初男(九工大・情報工・電子情報)、石塚 智(九大・歯・生理)

中枢神経系にはバースト放電するニューロンが数多く存在することが知られており、それらのバースト信号が情報を伝え、また、神経回路網のいろいろな機能と深く関係していると考えられている。したがって、バースト信号と神経回路網の機能との関係をより深く理解する為には、ニューロンのバースト信号に対する応答のパターンやそれらのダイナミクスを明らかにすることが大切である。本研究では、軟体動物であるイソアワモチのペースメーカーニューロンを用い、それに単シナプス投射している右側側神経束を周期的バースト信号で刺激したときの応答を調べた。

ビート放電しているペースメーカーニューロンの放電パターンは、図1に示されているように、バースト信号に対してバースト放電に変わり、しかもそれらのバースト放電がバースト信号に引き込まれたり、不規則になったりする。これらの応答パターンをバースト信号のバースト周期と刺激の強さをパラメータとした相図にまとめた。バースト信号に対する不規則な応答のカオスの性質は、活動電位に注目するよりは、ペースメーカー振動(図1の点線)に注目することによって、明らかにすることができた。つまり、これらの応答波形を各バースト信号の開始時間でサンプリングし、得られた膜電位の時系列から求めた一次元ストロボ写像によってカオスの性質を明らかにすることができた。また、Wolfの方法で求めた不規則な応答のリアプノフ指数は正であった。さらに、ペースメーカーニューロンの発火数と刺激数の比は、周期信号よりバースト信号に対して大きな値を示した。

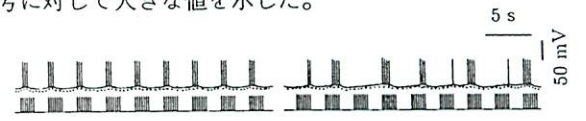


図1 バースト信号に対するペースメーカーニューロンの応答

Y. Miyake, H. Mukaiyama, T. Kobayashi, H. Shimizu: Pattern analysis of animal behavior under self-organization process of space recognition map in rat

K. Tateno, H. Hayashi, S. Ishizuka: Responses of Onchidium pacemaker neuron to a periodic burst stimulation