1PA121

プレパレーションの違いによるヨーロッパモノアラガイ咀嚼調節ニューロン応答の比較

○鈴木猛, 小島哲, 小林卓, 伊藤悦朗
(北大・院理・生物科学)

ヨーロッパモノアラガイの脳神経節に存在する Cerebral Giant Cell (CGC)は、摂食行動時に咀嚼リズムの促進と調節を行っている。また味覚嫌悪学習においては、この CGC は嗜好性化学刺激 (ショ糖) や忌避性化学刺激 (KCl) などの刺激入力が連合する場所である。中枢神経系に管や触角を付けた semi-intact プレパレーションでは、これらの化学刺激によって CGC からの自発的発火は有意に増大した。しかし semi-intact プレパレーションでは、嗜好性刺激であるショ糖投与によって起こるはずの咀嚼応答や、忌避性刺激である KCl 投与によって起こるはずの殻への引き込み応答は、プレパレーションの作成上表現され得ない。したがって、in vivo の応答を正確に反映しているか否か判定できないのが現状である。

今回の実験では、慢性電極を用いた intact プレパレーションを作成し、その CGC からの応答を記録することによって、semi-intact プレパレーションでの応答の妥当性を検討した。実際に無刺激時の自発的発火の割合は、intact プレパレーションの方が低かった。

T.Suzuki, S.Kojima, S.Kobayashi, E.Ito: Comparison of the CGC responses between different preparations in *Lymnaea stagnalis*.

1PA122

咀嚼行動発現に対するヨーロッパモノアラガイ中枢神経系での NO 測定

○小林 卓¹, 定本久世¹, 小川宏人², 伊藤悦朗¹
(¹北大・院理・生物科学, ²埼玉医大・医・生物)

淡水産軟体動物ヨーロッパモノアラガイ (*Lymnaea stagnalis*) の咀嚼神経回路では一酸化窒素 (NO) が情報伝達物質として働くことが示唆されている。しかし、実際の咀嚼に伴って中枢神経系で産生される NO を測定した例は今までに無い。そこで本研究では、semi-intact 標本に NO 電極法を適用して、中枢神経系での NO 濃度を測定した。咀嚼行動を引き起こすショ糖刺激を与えることによって口球神経節での NO 濃度上昇が測定された。この濃度上昇は NO-scavenger によって消失した。また、この NO 濃度上昇は NO 合成酵素を含有する運動神経細胞の咀嚼リズム応答と時間的に一致することが示唆された。これらのことから、モノアラガイの咀嚼行動に伴って実際に NO が放出されることが示された。この結果は世界で初めて、動物の行動と NO の発生とを関連付けることに成功したデータである。

S. Kobayashi, H. Sadamoto, H. Ogawa, E. Ito: Direct measurement of nitric oxide (NO) in central nervous system of *Lymnaea stagnalis*.

1PA123

ナメクジ単離脳における嗅覚性忌避連合学習
○井上 剛、渡辺 恵、川原茂敬、桐野 豊
(東大・薬・神経生物物理)

[目的] 記憶・学習の神経機構を明らかにするには生物が学習する際、もしくは再認過程の神経回路の変化をリアルタイムに捉えることが望まれる。軟体動物は神経回路の研究が容易な単離脳 (*in vitro*) 条件下で研究を行うことが出来るため、この条件下における学習系が幾つか開発されてきた。しかし嗅覚系における *in vitro* 学習系は未だ確立されていない。嗅覚系脳領域では神経細胞群の同期的振動活動が動物種を越えて普遍的に観察されており、この生理学的役割に興味が持たれている。そこで本研究ではコウナメクジ (*Limax marginatus*) *in vitro* 条件下における嗅覚学習系を開発すること、さらに匂い認識、再認過程における嗅覚中枢である前脳の振動活動の修飾を調べることを目的とした。

[結果と考察] ナメクジはニンジンやキュウリの匂いに対しては誘引的であるが、これらの匂いと頭部への電気刺激を組み合わせることによって忌避学習した。また忌避行動の際、ナメクジの背中を覆う外套筋肉も収縮することが観察された。この外套筋肉の収縮は p-VN と呼ばれる同定された運動神経細胞を介して行われることが知られている。そこで p-VN を行動指標として用いることにより、*in vitro* 条件下で学習させることを試みた。その結果、誘引性の匂いに対しては p-VN はほとんど発火を示さないが、誘引性の匂いと電気刺激を組み合わせることにより、その匂いに対して p-VN は発火するようになった。

次に条件付け前後における匂いに対する前脳振動活動の修飾について調べた。前脳においては自発的に周期的な局所場電位 (LFP) 振動が観察されるが、この振動数は条件付けていない匂いに対して変化しないが、条件付けた匂いに対しては上昇した。またこの上昇は学習した脳 (p-VN が発火した脳) において選択的に見られた。一方で神経細胞群の同期化の指標となる LFP 振動の振幅は条件付け前後に関わらず、匂い入力に対して短縮した。これらの結果は *in vitro* 条件下において嗅覚学習させることが可能であることを示しており、匂いの認識・再認過程において前脳振動活動の二つのパラメータが異なる生理学的役割を有することを示唆している。

T.Inoue, S.Watanabe, S.Kawahara, Y.Kirino: *In vitro* odor-aversion conditioning and underlying neural mechanism in a terrestrial mollusk.

1PA124

ナメクジ触角神経節における同期的膜電位振動のセロトニンによる修飾
○猪熊 泰子、渡辺 恵、桐野 豊
(東大・薬・神経生物物理)

[目的] 陸棲軟体動物コウナメクジ (*Limax marginatus*) は、単純な脳の構造にも関わらず高度な嗅覚学習を行うことが知られている。その触角の先端には嗅上皮があり、ここで匂い刺激を受ける。生じた匂い信号の大部分は嗅上皮の直下の触角神経節にある介在神経を通り、触角神経束を経て脳神経節内の前脳葉に運ばれる。これまでの報告からナメクジの匂い記憶の形成には前脳葉が深く関与していることが明らかになっている。前脳葉では定常的な振動性局所場電位 (LFP) が観察される。一方、前脳より低次の情報処理領域である触角神経節でも最近同期振動が観察されている。しかし学習を含めた匂い情報処理の際にこの振動がどのような修飾をうけるかどうかはよく分かっていない。そこで私は軟体動物において重要な役割を持つことが報告されているセロトニンの触角神経節における効果を調べることにした。

[方法] まず電気生理学的手法として微小ガラス電極で触角神経節の表面から LFP を記録し、セロトニンを含む溶液で灌流した時の変化を観察した。次に触角神経節全体の膜電位の時空間的变化を調べるために、膜電位感受性色素 di-4-ANEPPS で染色した触角神経節および触角神経束の蛍光をイメージング法を用いて観察した。

[結果と考察] 電気生理的記録では、触角神経節は saline で灌流している時には振幅が小さく、振動数の高い LFP 振動が観察された。セロトニンを加えると振幅が大きくなり、振動数の低い周期的な波形の LFP 振動が見られるようになった。この振動は前脳葉や触角神経束を切除しても生じたことから、触角神経節独自で形成されることがわかった。また、光学測定では、セロトニン存在下では触角神経節および触角神経束のいずれにおいても膜電位振動が生じており、両所の位相差は触角神経束の方が遅れていた。これらの結果から、セロトニンは触角神経節の神経細胞群の同期振動を修飾することが示された。このようなセロトニンによる同期振動の修飾効果は、受け取った匂い刺激の情報を前脳葉へ伝達する際に、重要な役割を持っていることが考えられる。

Y. Inokuma, S. Watanabe, Y. Kirino: Modulation of synchronized oscillation by serotonin in the tentacle ganglion of *Limax marginatus*