2G1345

ナメクジ嗅覚中枢からの出力神経細胞, MPNの形態学的、電気生理学的特徴付け

○下園 哲、渡辺 恵、桐野 豊（東大・院薬・神経生物物理）

【目的】ナメクジの嗅覚中枢である前脳においては局所場電位(LFP)の振動が観察される。この現象は哺乳類の嗅覚系においても観察され、匂いの情報処理に重要な働きをしていると考えられている。ある神経システムにおける情報処理のメカニズムを解明するには、そのシステムの活動だけではなく、システムに対する入出力を扱わなければならない。これまでナメクジにおける匂いの情報処理の研究においては入力とその時の前脳の活動の変化に焦点が当てられ、出力に関してはほとんど研究がなされていなかった。そこで、前脳の出力を解明する目的で、これまでに前脳に直接神経突起を伸ばしている神経細胞MPN(metacerebro-procerebral neuron)を同定した。MPNは前脳において観察されるLFPの振動と同期した膜電位振動を示した。今回、MPNの形態学的・電気生理学的な特徴付けを行った。

【方法・結果】biocytinを注入し切片を作成してMPNの詳細な形態を調べると、中脳・後脳部位においてはMPNの神経突起にバリコシティー様構造が見られたが、前脳内部の神経突起にはバリコシティー様構造は見られなかった。脳神経節への匂いの入力経路である大触角神経束、小触角神経束を電気刺激すると、約20 msの潜時でMPNにEPSPが生じ、刺激強度を上昇させるとそのアンプリチュードは大きくなったが、潜時は一定でモノシナプスと考えられた。また、触角神経束の一発の電気刺激により、MPNにおいて数秒間にわたり持続する脱分極、過分極が見られたことから、ポリシナプスの経路を介した入力も受けていると考えられた。

【考察】形態の結果からもMPNが前脳からの出力を担っていることが示唆された。また、触角神経束の電気刺激により、MPNにモノシナプス性およびポリシナプス性の応答が見られたことは、MPNにおいて触角神経からの直接の匂い情報と前脳を介した匂い情報が統合されていることを示唆している。

S. Shimozono, S. Watanabe and Y. Kirino : Morphological and electrophysiological characterization of MPN, the output neuron from the olfactory center of Limax.

2G1415

ナメクジの匂い記憶形成を担当する細胞群が匂いの価値によって異なる機構についての考察

○三浦 治¹、牧野 悌也¹、木村 哲也²、岩間 明文³、関口 達彦³、矢野 雅文¹（¹東北大・通研、²理研・脳科学研、³三洋電機・筑波研）

生物が対象をいかに認識するかはその生物の価値判断に大きく依存する。しかしながら、価値判断が認識をどのように変化させるのかはまだよく解っていない。近年、簡単な神経系を持つナメクジにおいて価値判断が認識に与える影響についての知見が得られた。ナメクジに匂いと味の連合学習をさせた後、体腔内に蛍光色素 lucifer yellow を注入すると、嗅覚情報処理中枢と考えられる前脳葉(PC)の一群の細胞が lucifer yellow を取り込んでいるのが観察される(Kimura et al., 1998)。これはこの細胞群が匂い学習後一時的に活性化することを示しており、この細胞群が匂い記憶の形成を担当していると考えられる。また、この細胞群は報酬条件付けでは先端部側に出現し、忌避条件付けでは基部側に出現する傾向がある(Sekiguchi, 1998)。このことはどの細胞集団が活性化するかを先端部と基部を区別して決定する機構が備わっていなければならないことを意味する。

これまでのところ、PCの先端部と基部の物理的な性質の違いとして、細胞集団の電位振動の固有振動数が勾配を持ち、またPCの振動数は忌避刺激により減少することが知られている。これらのことから、匂い記憶形成を担当する細胞群を選択する機構を次のように考える。(1)PCの固有振動数勾配は報酬、忌避刺激によって変化する。(2)上の勾配とは異なる傾きを持ち、変化しない第二の勾配を仮定する。(3)これら二つの勾配の交点(固有振動数が等しい)に存在する細胞群が匂い記憶形成を担当する。この機構をモデル化するためには、二つの勾配の固有振動数が等しい場所を検出するメカニズムが必要となる。我々は木村ら(1998年生物物理学会)の知見をもとに試験的なモデルを作成し、そのようなメカニズムが実現可能であることを予備的に確認した。大会ではモデルの詳細について述べる。

H. Miura, Y. Makino, T. Kimura, A. Iwana, T. Sekiguchi and M. Yano : A study on the mechanism that different interneuron group of the slug brain contributes to an odor memory in relation to value of odor

2G1400

ナメクジ連合学習に関連する新規遺伝子 LAPS18の単離と機能解析

○桐野 豊、中矢 正、渡辺 恵、川原 茂敬、鈴木 利治（東大・院薬）

長期記憶の形成には蛋白質合成が必要であることが示されているが、実際にどのような蛋白質の新生がどうして必要であるのか、解明されていない。本研究は、ナメクジ(Limax marginatus)の学習に伴って発現が増大する遺伝子を単離・同定し、その機能を解明することを目的とした。条件刺激としてニンジンの匂い、無条件刺激として苦味物質キニジンの水溶液を用いた嗅覚-味覚連合学習の条件付けをナメクジに施してから3時間後に脳神経節を単離してtotal RNAを抽出し、条件付け群と対照群の間でdifferential displayを行った。更に、in situ hybridization, northern blotによりscreeningを行ったところ、学習により発現が変化する遺伝子1種を見出した。これは121アミノ酸残基からなる蛋白質をコードする新規遺伝子であり、LAPS18と命名した。その発現は神経特異的であり、学習から約12時間後に蛋白質量が增大した。学習後12時間の脳神経節において、対照動物の脳ではLAPS18は細胞体層に留まっていたのに対し、学習した個体では神経突起層にも存在し、記憶の獲得によりLAPS18の局在が変化する事が示された。さらにナメクジ脳神経節前葉の初代培養細胞の培養液にrecombinant LAPS18を添加すると、細胞の移動・凝集を促進した。以上の結果より、LAPS18は細胞体で生合成された後、神経突起を経由して末端で分泌される細胞外マトリックス蛋白質の1種であり、神経末端および細胞接着面に分布し、シナプス結合の修飾に関与する可能性が考えられた。相同遺伝子がヒト、マウス、zebra fishに存在することから、LAPS18は、種を越えて学習・記憶における重要な機能を担っている可能性が考えられる。

Y. Kirino, T. Nakaya, S. Watanabe, S. Kawahara and T. Suzuki : Expression and function of a novel gene in odor-taste associative learning in the terrestrial slug

2G1430

古典的条件付けによる神経可塑性部位の可視化

○金子 仁¹、清水 亮作²、小川 宏人³、岡 浩太郎⁴（¹慶大院・理工・基礎理工、²慶大院・理工・生体医工、³埼玉医大・生物、⁴慶應大・理工・システムデザイン）

ミミズは強い光刺激に対して逃避行動を示すが、弱い振動刺激では示さない。この性質を利用し、振動を条件刺激(CS)、光を無条件刺激(US)としてミミズ(*Eisenia fetida*)に古典的条件付けを試みた。CS(8 sec)とUS(3 sec)を同時に与えるForward条件付け、CSとUSをそれぞれランダムに与えるRandom条件付け、条件付けを行わないNaïveの3グループを設定した。定期的にCSのみを与え、その時の移動距離を条件付け成立の指標とした。Forwardグループでは、90回の組み合わせ刺激後に大きく応答した。一方、Random、Naïveでは、応答は増加しなかった。条件付け終了後、活動依存的にシナプス部位を染色する蛍光色素、FM1-43を用いてCSに対するミミズ腹髄神経節内の活動部位を可視化した。その結果、Random、Naïveグループでは、腹髄神経節中の第2、第3側神経束間に弱い蛍光が見られたのに対して、Forwardグループでは広範囲に強い蛍光が確認された。この部位は、第1、第2側神経束間の広い領域、及び第2、第3側神経束間の狭い領域で、腹髄神経節背側より深さ45~90 μm 付近に分布していた。この部位は、1回のUSによる蛍光部位と一致した。また、1回のCSによる染色部位は第2、第3側神経束間に限定されることから、第2、第3側神経束間に振動感受性ニューロンのシナプスが分布し、この部位が組み合わせ刺激によって活性化されることで、古典的条件付けが成立するものと考えた。

H.Kaneko, R.Shimizu, H.Ogawa and K.Oka : Optical Monitoring Of The Invertebrate Neural Plasticity On Classical Conditioning.