

## 別紙 4

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

## 主 論 文 の 要 旨

論文題目 Functional organization of segmentally homologous neurons in hindbrain (後脳分節間相同ニューロンの機能的構築)

氏 名 根木 大輔

## 論 文 内 容 の 要 旨

脊椎動物の脳は発生初期に吻尾軸方向に前脳・中脳・後脳に領域化され、さらにそれぞれが分節化される。各分節は Hox 遺伝子などによって個性化され、細胞移動も制限された結果、それぞれに固有のニューロンが生まれる。このようにして生まれたニューロンから成る脳の働きに、分節構造はどのように反映されるのだろうか？魚類の後脳には網様体脊髄路ニューロン群(Reticulospinal neurons, RSNs)が後脳に分節構造に従って配置されている。キンギョやゼブラフィッシュでは片側 100~200 個の RSNs が形態学的に同定されるだけでなく、同じ形態学的特徴を持つ相同(ホモログ)ニューロンが隣接する分節に繰り返されるという特徴を持つ(Metcalf et al., 1986; Lee et al., 1993)。その中で後脳第 4 分節に存在するマウスナー(M)細胞は魚の逃避運動を引き起こすことが知られている(Zottoli, 1977; Eaton et al., 1981)。しかし M 細胞の活動のみでは完全な逃避運動を達成するには充分ではなく、M 細胞の相同ニューロンである第 5 分節の MiD2cm や第 6 分節の MiD3cm のような他の RSNs の関与が考えられている。実際、逃避運動中に大多数の RSNs が活動することがカルシウムイメージングで示された(Gahtan et al., 2002)。細胞外記録によって逃避時に M 細胞の活動の後に RSNs の活動を含むと考えられる細胞外電場電位が記録されている(Weiss et al., 2006)。さらに、MiD3cm の活動は M 細胞の活動を伴う逃避では抑えられ、M 細胞の活動しない逃避では高くなる(Kohashi and Oda, 2008)ことから、M 細胞と RSNs の間には何らかの相互作用があると考えられてきた。本研究ではキンギョを用いて、M 細胞と RSNs 間の結合を電気生理学的に調べることを目的とした。特に、形態学的相同性と結合様式の間に関係があるか否かを検証し、後脳が分節構造を構成する意義を考察した。本論文は以下の 2 部から構成される。

## (1) 相同 RSNs の形態観察

相同ニューロンはどの程度形態学的に類似しているのだろうか？ガラス微小電極を RSNs に刺入し細胞内記録を行うニューロンにニューロビオチンを注入して染色し、相同

ニューロン間の形態の相異を詳細に調べた。この結果、これまでに定義された相同ニューロンは分節内における細胞体の位置、軸索の走行、主樹状突起の形状が互いによく保存されていた。その一方、樹状突起の形状や軸索走行にわずかな差異も見出され、相同ニューロンは分節の重複と変異によって構成されていることが示唆された。

## (2) M 細胞と相同 RSNs 間の機能結合

M 細胞の活動は、相同ニューロンにどのような入力を与えるのだろうか？M 細胞と RSNs を同時に細胞内記録し両者間の結合を電気生理学的に調べた。その結果、M 細胞から RSNs への結合があり、その結合様式は相同ニューロン間できわめてよく似ていて第 4～6 分節まで繰り返されていることが見出された。興味深いことに、どの RSNs からも M 細胞への入力は見られず、結合は M 細胞から RSNs への一方向性であり階層性のある結合であった。具体的には RSNs のうち背側に存在する M シリーズと MiDi シリーズについては、M 細胞と同側のニューロンには抑制性の入力を、対側のニューロンには興奮性の入力を与え、腹側に存在する MiV シリーズには発火閾値以上の左右対称の興奮性入力を与える。ただし、相同ニューロンの中でも、MiD2cm では両側に抑制性の入力であり、MiV1, MiV3 では興奮性入力の後に抑制性が続くという例外もあった。MiD 細胞への抑制性入力はストリキニンでブロックされるので、グリシン性のインターニューロンが M 細胞と MiD 細胞の間に介在すると推定される。これら M 細胞から RSNs へのシナプス電位はターゲットニューロンの発火パターンに反映された。

最後に、M 細胞から RSNs への結合の効果が実際の逃避行動に与える影響を考察した。キンギョの逃避運動は、体を大きく C の字に屈曲させるステージ 1 と屈曲後に刺激から遠ざかるステージ 2 に分けられる(Eaton et al., 1988; Foreman and Eaton, 1993)。MiD2cm を除く背側 RSNs への左右非対称な入力の効果時間はキンギョ逃避のステージ 1 に対応し、腹側 RSNs の持続性の効果はステージ 2 まで効いているので、背側 RSNs はステージ 1 の屈曲を助け、腹側 RSNs は推進力を発揮する効果があるのではないかと考え、背側と腹側のニューロンで役割分担がなされている可能性が示唆される。

形態が相同な 3 系統の RSNs は M 細胞との結合様式においてもそれぞれ酷似していて第 4 分節から第 6 分節の間で繰り返されていた。M 細胞が活動した時に各系統に属する相同ニューロンは同じような入力パターンを M 細胞から受ける神経ネットワークモチーフを形成すると考えられ、各系統から成るモチーフそれぞれが逃避行動で異なる役割を發揮することが示唆された。ただし、その形態も結合も相同ニューロン間で完全に繰り返されるわけではなく、分節特異的な相異も見出された。これらの結果から、脳の基本構造の一つである分節構造に基づいた機能的な回路構成を提唱した。