

## 別紙 4

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

## 主 論 文 の 要 旨

論文題目 Unique Firing Property and Reciprocal Inhibitory Circuit of the Mauthner Cell to Initiate Fast Escape Behavior in Zebrafish  
ゼブラフィッシュの素早い逃避運動を駆動するマウスナー細胞の特異的膜特性と相反抑制回路

氏 名 島崎 宇史

## 論 文 内 容 の 要 旨

脳の活動はニューロン自身と回路の特性によって制御されている。脊椎動物では大多数のニューロンは活動電位を発生させて次のニューロンに信号を伝達する。したがって、ニューロン回路を構成する個々のニューロンの発火特性は脳の活動を左右する重要な役割を果たす。さらに、ニューロンがシナプスという部位で結合したニューロン回路が、システムとしての機能を発揮する。私はモデル脊椎動物として注目されるゼブラフィッシュが侵害刺激から素早く逃げる逃避運動を制御する逃避回路を対象にして、その中心的な役割を果たす「マウスナー細胞」と呼ばれる網様体脊髄路ニューロンの発火特性と抑制性回路を、主に神経生理学および行動学的手法によって解析した。マウスナー細胞を中心とする魚の逃避運動回路は感覚入力から運動出力までの基本回路が細胞レベルで同定されている。マウスナー細胞は魚の後脳の左右に一对存在し、聴覚・視覚・触覚・側線感覚を受け、脊髄の運動ニューロンと介在ニューロンに出力を送っている。侵害刺激を受けると左右 1 対のマウスナー細胞の片方が活動電位を発生し、逃避運動の最初におこる胴の素早い屈曲をトリガーすることが知られている。したがって、マウスナー細胞を中心とする逃避運動回路は 1 つの中枢ニューロンの活動が運動に直接反映される独特の系であり、ニューロン自身の興奮性やニューロン回路の特性が運動に直接結びついて理解できる特長がある。マウスナー細胞は後脳分節に繰り返し配置されている網様体脊髄路ニューロン群の一つであり、隣接する分節には、マウスナー細胞と共通の形態学的特徴を持ち、同じように聴覚入力を受ける相同ニューロンが存在する。相同ニューロンは通常ニューロンと同様に入力量に応じた周波数で活動電位を発生するのに対して、マウスナー細胞は大きな入力に 1 発のみの活動電位を発生する（単発発火特性）。マウスナー細胞の特殊な発火特性は発達の段階で獲得される。この現象は「脳のニューロンが発達段階でそれぞれ固有の興奮性を獲得するモデル」になると考え、私はマウスナー細胞が発達段階で特有の単発発火特性を獲得する分子基盤を明らかにすることを第一の研究目的とした。

また、魚の迅速な逃避運動は、特に聴覚入力によるものは、左右一対存在するマウスナー細胞の一方が活動して、刺激と反対側に逃げると理解されている。一対の片方が活動するためには、左右のマウスナー細胞間の相互抑制回路（特に相反抑制回路と呼ぶ）が重要な役割を果たすと考えられてきたが、その回路の詳細は不明のままであり、役割について検討されないままになっていた。この系は、左右対称に構成された我々の脳が左右非対称に働く回路モデルを提供すると考え、その回路構成を細胞レベルで明らかにし、相反抑制回路が逃避運動に果たす役割を調べることを第二の研究目的とした。

第一の研究目的に対しては、発達段階のゼブラフィッシュを用いて、活動電位の発生パターンの変化をマウスナー細胞と相同ニューロンの中で調べ、マウスナー細胞の単発発火にとって必要な2つの低閾値型チャンネルとその修飾サブユニットをクローニングして、チャンネルのキネティクスを調べ、それぞれが単発発火に果たす役割を調べた。その結果、マウスナー細胞には2種類の低閾値型カリウムチャンネル（Kv1.1チャンネルとKv7.4チャンネル）が発現していた。共に低閾値型カリウムチャンネルであったが、キネティクスが異なっていた。Kv1.1チャンネルは脱分極直後に全開するような速いキネティクスを示した。さらに、調節因子Kvβ2と共発現すると電流量が増えるだけでなく、更に脱分極側でチャンネルの開き方が速くなった。一方、Kv7.4チャンネルは脱分極してからゆっくり開き始め、その速度はKv1.1より10倍遅かった。また、Kv1.1はM細胞にも相同ニューロンのMiD2cm/MiD3cm細胞にもしているが、調節因子Kvβ2はM細胞が単発発火特性を獲得し始める3日齢以降にM細胞のみに特異的に発現する。一方、Kv7.4は発達初期(2日齢)からM細胞に発現し、相同ニューロンには発現していない。このように特性の異なる2つの低閾値型カリウムチャンネルの発現がM細胞で組み合わせられることが、マウスナー細胞の特殊な単発発火特性を生み出す。

第二の研究目的に対しては、左右のマウスナー細胞間の相反抑制回路の構成と機能の解析を行った。マウスナー細胞間の相反抑制回路については、これまで中継する介在ニューロンの具体的な数と場所が不明瞭であったために、行動への寄与が不明であった。本研究では、中継ニューロン候補に緑色蛍光タンパク質を発現するゼブラフィッシュを活用して、相反抑制回路を細胞レベルで明らかにした。さらに電気生理学的解析、イメージングおよび行動学的な解析で、この相反抑制回路が非対称運動を生み出す上で重要であること、相互抑制回路は脳と脊髄で多重に存在し高度に運動制御をしていることを明らかにした。