

## 昆虫の脳の高次中枢における記憶形成の神経生理学的研究

Neurophysiological study on the memory formation in insect higher brain centers.

研究代表者 北海道大学電子科学研究所助教授 水波 誠  
Assoc. Prof., Res. Inst. for Electronic Sci., Hokkaido Univ.  
Makoto Mizunami

Activities of neurons of the mushroom body, a higher center implicated in olfactory and spatial memory processing, have been examined in the cockroach while the cockroach is walking freely. Recordings were made by implanting copper-wire electrodes into the mushroom body. Units recorded at the input area of the mushroom body, the calyx, were exclusively sensory, responded to visual, olfactory or mechanical stimulations. Units recorded at the output areas of the mushroom body were classified into: 1) sensory units, 2) motor-related units, 3) sensory-motor units which were active during sensory stimulation and during locomotion, 4) motor preparatory units whose activities preceded an initiation of specific locomotory action. The results suggest that the mushroom body participates in the control, and possible planing, of locomotory behavior.

### 研究目的

昆虫は無脊椎動物のなかでは際立った学習能力を持つ。例えばミツバチやアリの採餌行動や帰巣は、場所、時間、太陽の方位、花の形や色や匂いなどについての驚くほど正確な記憶に支えられたものである。わずか100万のニューロン（神経細胞）から構成される比較的単純な構造の脳を持つ昆虫がなぜこのような高度な記憶能力を持つのか、その機構を解明することは生物学上重要であるのみならず、ヒトも含めた哺乳類の学習の機構を解明するための基礎となりうる。

ミツバチやアリなどの昆虫が生息環境中の特定の場所、例えば巣や餌場の位置などを記憶する能力があることは古くから知られていたが、昆虫の脳のどの領域が場所記憶に関係しているのかは従来、未解明であった。最近、私達はワモンゴキブリを用いた学習行動実験と脳の破壊手術により、昆虫の脳の高次中枢の1つであるキノコ体が場所記憶に関与することを明らかにすることができた。本研究の第1の目的は、キノコ体における場所記憶形成の神経機構の解明のための第一歩として、自由行動中および場所学習訓練中のゴキブリのキノコ体のニューロンの活動様式を明らかにすることである。神経系による学習の基盤はニューロン間のシナプス伝達の効率の変化であると考えられており、伝達の効率が変化するシナプスは可塑シナプスと呼ばれている。本研究の第2の目的は、組織学的な研究によってゴキブリのキノコ体の神経構築を明らかにし、キノコ体での可塑シナプスの所在についての示唆を得ることである。

### 研究経過

1) 記録電極には直径14 $\mu$ mまたは17 $\mu$ mのポリゾール被覆銅線を4-6本束ねたものを用いた。冷却麻酔したワモンゴキブリを手術台に固定して脳を露出させ、マイクロマニピュレー

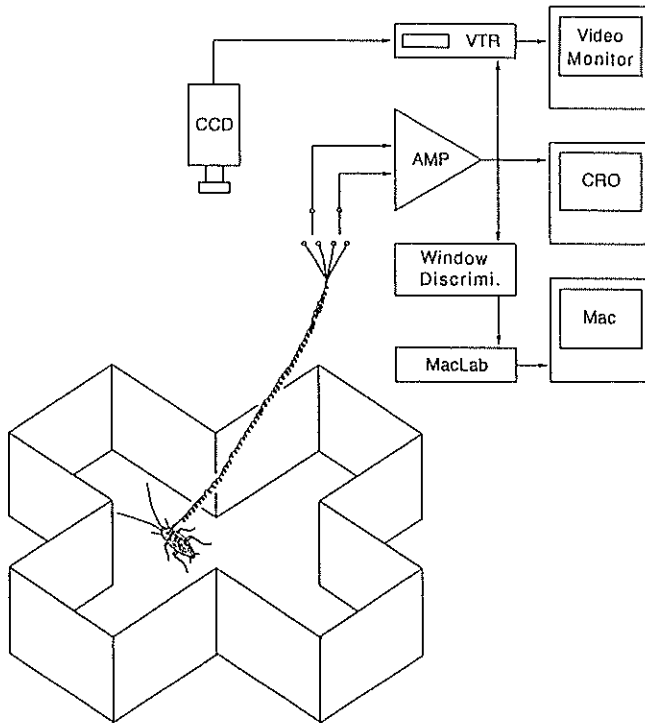


図1 行動中のゴキブリのキノコ体ニューロンの活動の記録法。銅線の束（ワイヤ電極）を脳のキノコ体に埋めこみ、頭部の外骨格に固定した。ニューロンの活動は差動増幅器で増幅し、ウィンドウ・ディスクリミネータで一定波形のパルスに変換してコンピュータに取り込んだ。AMP：差動増幅器、CCD：CCDカメラ、CRO：オシロスコープ、MacLab：A/D変換器。

タを用いて銅線（ワイヤ電極）の先端をキノコ体に埋め込んだ。ワイヤ電極は頭部の外骨格に固定して、差動増幅器に接続した。麻酔からの回復後、自由行動中のゴキブリのキノコ体のニューロンの活動を長期慢性記録した（図1）。ゴキブリの行動はビデオの映像チャンネルに、ニューロンの活動は音声チャンネルに記録した。記録終了後、電極から組織中に銅イオンを注入して記録部位のマーキングを行なうとともに電極近傍のニューロンを染色出し、どのタイプのニューロンからの記録であるのかを推定した。

2) さらにワイヤ電極をキノコ体に埋め込んだゴキブリに場所学習訓練を行ない、学習成立の前後でのキノコ体ニューロンの活動の変化を調べた。学習実験には十字型迷路を用いた。今回は電極の刺入部位を柄葉接合部に絞り、この部位のニューロンの活動の場所学習成立の前後での変化を詳細に調べた。

3) キノコ体における可塑シナプスの所在を明らかにするための第一歩として、鍍銀染色、ゴルジ染色、エチルガレート染色を行なって、キノコ体の神経構築を調べた。さらに、コバルトを充填した微小ガラス管をキノコ体に刺入し、電気泳動によって組織中にコバルトを注入し、キノコ体を構成する各種のニューロンの形態とそのキノコ体内における配置を明らかにし、キノコ体の神経回路の詳細について検討した。

## 研究成果

1) キノコ体の入力部である傘（Calyx）で記録されたニューロンの大多数は感覚性であり、視覚、嗅覚、または機械覚（触覚または気流感覚）刺激に反応した。複数の種類の感覚刺激に反応するニューロンもあった。また、体や脚、触覚、首などの自己受容器からの入力を受け、自身の行動をモニターしていると思われるニューロンも見られた。記録後の染色像から、活動が

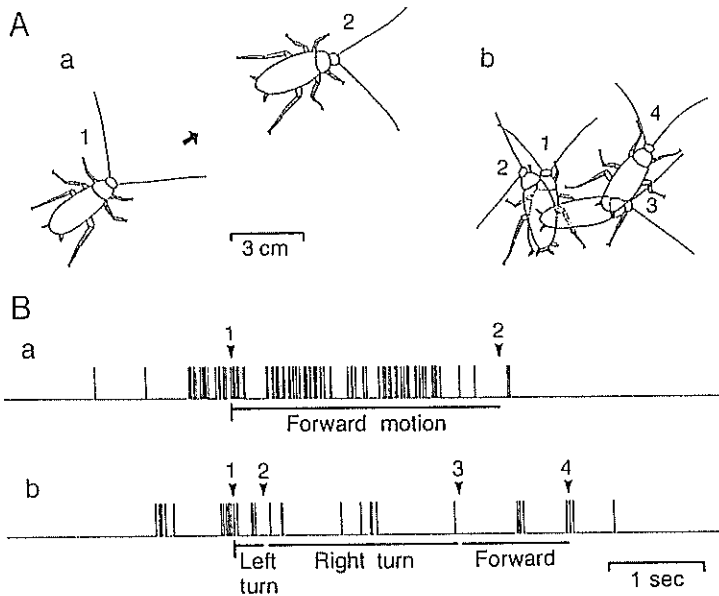


図2 自由行動中のゴキブリのキノコ体ニューロンの活動。A：ビデオで録画したゴキブリの行動。ゴキブリの動きはモニター上で画面を静止させてスケッチした。B：ワイヤ電極で記録したAの行動の際のキノコ体ニューロンの活動。記録の上に表示した数字はAの行動記録の数字に対応する。ニューロンの活動はウィンドウ・ディスクリミネータで一定波形に変換した。このニューロンはゴキブリの歩行中及び歩行の開始に先行した活動を示す。

記録されたニューロンは感覚中枢からキノコ体へ投射するキノコ体入力ニューロンであると推定された。一方、キノコ体の出力部である葉部 (Lobe) や柄葉接合部 (Pedunculus-lobe junction) で記録されたニューロンはその応答様式から 1) 視覚、嗅覚、または機械覚刺激に反応する感覚性のニューロン、2) 歩行時に活動する運動性のニューロン、3) 感覚刺激時にも歩行時にも活動する感覚-運動性のニューロン、4) 歩行中および歩行の開始に先行して発火するニューロン (図2) や方向転換中および方向転換の開始に先行して発火するニューロン、に分けられた。4番目のタイプのニューロンは運動の開始や組み立てに関与すると考えられ、運動準備ニューロンと名づけた。その一部は目標地への定位運動に関与するものと考えられた。記録後の染色像から、これらの記録はキノコ体から前運動中枢に投射するキノコ体出力ニューロンからのものと推定された。

2) キノコ体の柄葉接合部のニューロンの活動が場所学習成立の前後で変化するのかについて詳細に検討したが、現在までのところ、この領域のニューロンの活動が場所学習成立の前後で変化することを示す確証を得るには至っていない。

3) 種々の組織学的手法を用いてキノコ体の神経構築について調べた結果、キノコ体には12-16層からなる層状構造があることが明らかになった。各層は約数千-1万のキノコ体内在ニューロン (Kenyon cell) から構成されていた。キノコ体への入力ニューロンは嗅覚、視覚や機械覚の感覚中枢から発し、キノコ体の傘 (Calyx) に投射してキノコ体内在ニューロンにシ

ナブス結合するが、各々の入力ニューロンは複数の層に軸索終末を伸ばしていた。一方、葉部や柄葉接合部の出力ニューロンはキノコ体内在ニューロンからシナプスを受け、前運動中枢に投射するが、各々の出力ニューロンは複数の層に樹状突起を伸ばしていた。これらの知見はキノコ体において情報の発散と収れんが行われていることを示すものである。キノコ体における可塑シナプスの所在の候補としてはこのうちの発散の過程、すなわち入力ニューロンから内在ニューロンへのシナプスが有力であると考えられた。

## 今後の課題と展望

1) 自由行動中の昆虫のキノコ体ニューロンの活動を初めて記録・解析した本研究により、キノコ体が昆虫の行動の組み立てや企画に深く関与していることが強く示唆された。この成果は昆虫の行動の神経機構の解明に向けての新たな突破口となりうるものであり、今後、大きな研究展開が期待できる。

2) 本研究ではさらに場所学習訓練の前後でのキノコ体ニューロンの活動の変化について調べたが、少なくとも柄葉接合部のニューロンからはそのような変化を見出すことはできなかった。この実験には様々な実験上の困難や制約があり今回の結果から早急な結論を出すことは避けなければならないが、場所記憶に直接かわるのはキノコ体の他の領域なのかもしれない。今後さらに粘り強く研究を押し進めていく必要がある。

3) 組織学的な研究からキノコ体での可塑シナプスの候補としては入力ニューロンから内在ニューロンへのシナプスが有力であると考えられた。この仮説の検証のためには今後、詳細な電気生理学的な研究が必要である。

謝辞 本研究の遂行にあたり、貴重な助成をいただいた日産科学振興財団に心から御礼申し上げます。

## 発表論文リスト

- 1) J. Ikeda, M. Mizunami and N. J. Strausfeld (1994) Activity of higher center neurons of the cockroach during walking. *Neuroscience Research*, 19, S230.
- 2) M. Mizunami, J. Ikeda, and N. J. Strausfeld (1994) Activity of mushroom body neurons of freely walking cockroaches. *Zoological Science*, 56, S111.
- 3) 水波誠、池田潤治、ニコラス ストラスフェルド (1994) 歩行運動中のゴキブリのキノコ体ニューロンの活動、*日本生理学雑誌*, 56, 381.
- 4) 水波誠 (1995) キノコ体は記憶の座である (分担執筆). 富永佳也編、*昆虫の脳を探る*、共立出版、pp. 218-233.
- 5) 水波誠 (1995) *昆虫の記憶と学習* (分担執筆). 青木清編、行動生物学、朝倉書店、(印刷中)