

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07488

研究課題名(和文)カマキリの捕獲行動における感覚運動変換の神経基盤の解明

研究課題名(英文)Neural basis of sensory-motor transformation in predatory behavior of the mantis

研究代表者

山脇 兆史 (Yamawaki, Yoshifumi)

九州大学・理学研究院・講師

研究者番号：80325498

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：物体をつかむには、物体の位置に関する視覚情報をもとに前肢への運動指令を生成する必要がある。この過程は感覚運動変換と呼ばれ、その神経回路には未解明の部分が多い。感覚運動変換の神経基盤を探るために、本研究ではカマキリを対象に運動中枢である胸部神経節の標準地図を作成した。標準地図とは、神経系の構造を平均化して各領域に名称をつけた地図であり、異なる個体から得られた形態データを統合するための基準となる。今回あらたに作成した胸部神経節の標準地図を利用して、染色したニューロンなどの形態データの統合を試験的に行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で作成した胸部神経節の標準地図は、感覚運動変換の神経回路を同定するうえで役立つと期待される。昆虫の脳は古くから研究されており、標準地図とともに各部位の機能の同定が進んでいる。一方、胸部神経節は脚の運動を制御する重要な中枢であるにも関わらず、構造や機能の同定はあまり進んでいなかった。今後は感覚運動変換に関わるニューロンを同定していく予定だが、それらを胸部神経節の標準地図に登録することで、形態の比較やニューロン間の接続の推定が可能になる。カマキリにおける感覚運動変換の神経基盤を理解することで、昆虫だけでなく動物一般における運動制御の神経機構の理解が進むと期待される。

研究成果の概要(英文)：During reaching to an object, motor commands controlling foreleg movements are generated based on visual information about the object location. This process is called sensory-motor transformation, and its neural circuits are unknown. To investigate the neural basis of sensory-motor transformation, we created a standard map of thoracic ganglia that is a motor center in the praying mantis. A standard map is made by averaging images of neural structures and by labelling each region of them. The resulting map is used for integrating morphological data obtained from different individuals. We stained several neurons and integrate their morphological data into the standard map of the thoracic ganglia.

研究分野：神経行動学

キーワード：運動制御 感覚運動変換 胸部神経節 昆虫

1. 研究開始当初の背景

我々は日常生活においてリーチング(物体をつかむために腕をのばす動作)を何の支障もなく行っているが、この運動は想像以上に複雑な情報処理をとまなう。リーチングを行うには、視覚によって得られた物体の位置情報をもとに、肩や腕の筋肉を適切なタイミングで収縮させる必要がある。そのような筋肉に対して収縮を指示する命令を、運動指令と呼ぶ。感覚情報をもとに運動指令を生成する過程は感覚運動変換と呼ばれるが、その神経回路の実体はほとんどわかっていない。

そこで本研究では、感覚運動変換の神経基盤を解明するために、霊長類に比べて単純な神経系をもつ昆虫に着目した。昆虫の中では例外的に、カマキリの捕獲行動ではリーチングに似た感覚運動変換が行われる。カマキリは複眼で検出した餌の位置情報に応じて、前肢の運動を調整して捕獲する。例えば、遠くに餌があるときは、より大きく前肢を伸ばす。このような視覚情報から前肢の運動指令への変換が報告されている昆虫は、カマキリのみである。

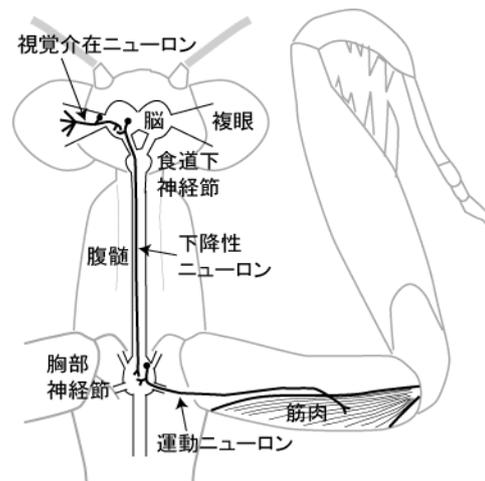
昆虫の感覚運動変換の中枢は胸部神経節にあると予想される。昆虫の神経系は主に脳と神経節から構成され、脚を動かす筋肉を支配する運動ニューロンは胸部神経節に存在する。脳から胸部神経節へと情報を伝える下降性ニューロンの応答を調べた結果、脳内の視覚介在ニューロンの応答と似ていたことから、脳内で運動指令への変換は行われていないと考えられた。以上の理由から、本研究ではカマキリの胸部神経節に着目した。

2. 研究の目的

本研究では神経解剖・生理学的手法を用いて、カマキリ捕獲行動における感覚運動変換の中枢の候補部位の特定を目指した。そのために、胸部神経節の標準地図を作成し、運動ニューロンなどの投射先を調べた。

神経系の機能を理解するには、まずその構造を把握することが重要である。しかし、神経構造にも個体差があるため、異なる試料から得られた形態データを比較・統合するには、参照基準となる標準地図が必要になる。昆虫の脳の標準地図はすでに多くの事例が報告されているが、胸部神経節ではほとんど報告されていなかった。そこで、カマキリ胸部神経節を対象に、標準地図の作成を目指した。

感覚運動変換の中枢部位には、感覚情報を伝えるニューロンや運動指令を受け取るニューロンが投射していると推測された。そこで、視覚情報を伝える下降性ニューロン、体の姿勢や動きを検出する自己受容感覚ニューロン、そして筋肉を収縮させる運動ニューロンの形態の観察を試みた。その形態データを本研究で作成した標準地図に統合することで、それらのニューロンの投射パターンの解析を試みた。



3. 研究の方法

まず標準地図を作成するために、胸部神経節のニューロパイルを染色し、その三次元構造を共焦点レーザー顕微鏡で観察した。ニューロパイルとはニューロンの突起が密集してシナプスを形成する領域であり、昆虫の神経系の機能単位である。シナプスに特異的に発現するタンパク質に対する抗体をつかえば、ニューロパイルを免疫染色できる。

胸部神経節におけるニューロパイル構造の観察画像を多数得たのち、平均化処理を繰り返すことにより個体差を消去した標準画像を作成した。平均化の手法は、昆虫の脳において標準地図の作成に用いられたものを参考にした。先行研究による観察結果や、胸部神経節の切片をヘマトキシリン・エオシン染色した試料の観察結果を参考に、標準画像におけるニューロパイルの各領域に名称をつけた。

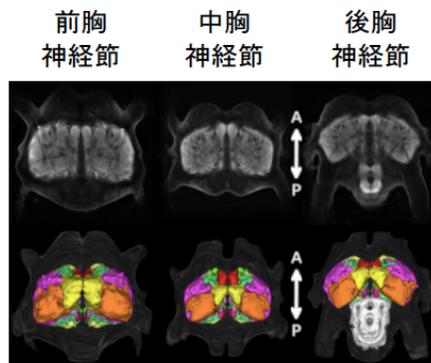
こうして作成した標準地図にたいして、運動ニューロンなどの形態データの統合を試験的に行なった。まず、逆行性染色法により運動ニューロンを染色し、順行性染色法により自己受容感覚ニューロンや下降性ニューロンの突起を染色した。これらの方法では、ニューロンの軸索の切断端を染色液に漬け込むことで色素をとりこませる。これらの試料を共焦点レーザー顕微鏡で観察してえられた形態データを標準地図に統合し、投射パターンの解析を行った。

この逆行性・順行性染色法では多数のニューロンが同時に染色されるため、細胞内記録・染色法による単一のニューロンの染色も試みた。この方法では、ガラス微小電極をニューロンの細胞体や軸索に挿入し、電極から色素を注入することで目標のニューロンのみを染色する。カマキリの胸部神経節にたいして細胞内記録・染色法を適用した研究はこれまで行われていなかったため、その手法の確立を試みた。

また、前肢運動が運動ニューロンによって制御される機構を調べるために、捕獲行動中の筋電位活動を記録して関節運動との相関を解析した。この実験では、ワイヤ電極を筋肉に刺入することで筋電位を記録し、運動ニューロンの発火活動を計測した。同時に高速度カメラで前肢の運動を撮影し、各関節角度の変化を計測した。この二つの相関を解析することで、運動ニューロンの活動が関節角度にあたる影響を調べることができる。

4. 研究成果

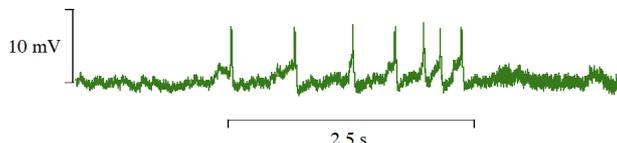
ニューロパイルに豊富に存在するシナプシンに対する抗体を用いてカマキリ胸部神経節の免疫蛍光染色を行った。その結果、前胸、中胸、後胸すべての神経節に対して、明瞭に染色された試料を10個以上得ることが出来た。これらの試料を共焦点レーザー顕微鏡によって観察し、観察された画像に対して画像変換処理を行うことで平均化画像を作成した。カマキリ胸部神経節においてはニューロパイル領域の区分と定義がされていなかったため、バッタやナナフシにおける先行研究を参考に、あらたに領域の定義をおこなった。この定義をもとにニューロパイル領域を三次元構築し、標準地図を作成した。この成果を最終的に論文として出版することで公表に至った (Fujiki et al. 2020)。



上は、平均化した染色画像の例
下は、標準地図の三次元モデル

そして胸部神経節内の一部の運動ニューロンの逆行性染色や下降性ニューロンと自己受容感覚ニューロンの順行性染色を行い、形態データの標準地図への登録を試験的に行った。その結果、自己感覚ニューロンは胸部神経節の腹側のニューロパイルに投射する一方で、下降性ニューロンや運動ニューロンは背側のニューロパイルに投射する傾向があることを再確認した。

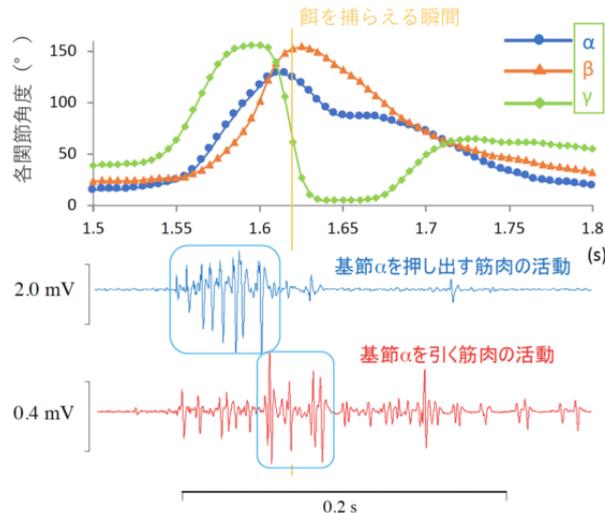
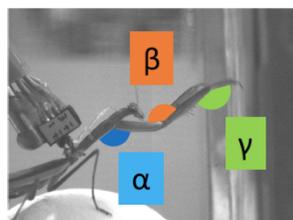
また、前肢運動に寄与する筋肉を神経支配する運動ニューロンを同定するために、胸部神経節のニューロンに対して細胞内記録法を適用する実験装置の開発に取り組んだ。装置の改良を進めた結果、運動ニューロン応答の細胞内記録に成功した。今後、この装置を利用して運動ニューロンの同定をすすめていくことで、運動ニューロンの機能と投射領域の関係を調べていく予定である。



運動ニューロンからの細胞内記録の例
細胞体に電極を刺入して記録しているため、通常より小さな活動電位が観察される

さらに、前肢運動が運動ニューロンによって制御される機構を調べるために、捕獲行動中の筋電位活動を記録して関節運動との相関を調べた。本研究室で以前行った研究成果と合わせて解析した結果、前胸・基節 (α)、基節・腿節 (β)、腿節・脛節 (γ) の関節運動において主要な役割を果たす筋肉が確認された。これらの全ての関節において、運動ニューロンの発火時間が関節角度を決定する重要なパラメータであることが示唆された。

また、これまで使用していた高速度カメラでは関節速度の精密な計測が難しかったため、より時間分解能の高いあらたな高速度カメラを導入して装置の改良を行った。これにより、今後は角度だけでなく速度の制御に関する詳細な解析が可能になると期待できる。



上のグラフは、捕獲行動中の前肢の関節角度の変化を表す
下は筋電位の記録の例

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Fujiki Kentaro, Nagase Mihoko, Takaki Keigo, Watanabe Hidehiro, Yamawaki Yoshifumi | 4. 巻 528 |
| 2. 論文標題 Three dimensional atlas of thoracic ganglia in the praying mantis, Tenodera aridifolia | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Comparative Neurology | 6. 最初と最後の頁 1599-1615 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cne.24841 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 1件／うち国際学会 3件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 Sho Ogawa, Takatoshi Ueno, Yoshifumi Yamawaki |
| 2. 発表標題 Control of foreleg elevation during predatory strike in the mantis: effects of muscle activity on joint movements |
| 3. 学会等名 日本比較生理生化学会 第41回東京大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Yoshifumi Yamawaki |
| 2. 発表標題 Temporal control of foreleg movements in predatory strike of the mantis |
| 3. 学会等名 日本比較生理生化学会第40回大会、シンポジウム（招待講演） |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Sho Ogawa, Takatoshi Ueno and Yoshifumi Yamawaki |
| 2. 発表標題 Control of foreleg elevation during predatory strike in the mantis |
| 3. 学会等名 日本比較生理生化学会第40回大会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Yoshifumi Yamawaki |
| 2. 発表標題 The response properties of visual interneurons in the mantis unravel the functional organization of the lobula complex. |
| 3. 学会等名 The International Congress of Neuroethology (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Fujiki K, Nagase M and Yamawaki Y |
| 2. 発表標題 Standardization of neural structures of thoracic ganglia in the praying mantis |
| 3. 学会等名 The 5th International Entomophagous Insects Conference (国際学会) |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Fujiki K, Nagase M and Yamawaki Y |
| 2. 発表標題 Standardization of neural structures of thoracic ganglia in the praying mantis |
| 3. 学会等名 日本比較生理生化学会第39回大会 |
| 4. 発表年 2017年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

九州大学理学研究院生物科学部門 細胞機能学研究室
<http://www.biology.kyushu-u.ac.jp/~funcell/>

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------------------|--|--|----|
| 研究 分 担 者 | 渡邊 英博 (Watanabe Hidehiro) (90535139) | 福岡大学・理学部・助教 (37111) | |