

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 7 日現在

機関番号：12702

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22570073

研究課題名（和文） 超微小時間情報処理回路のシナプス伝達様式

研究課題名（英文） Neuroanatomical properties of 'time comparison circuit' in weakly electric fishes

研究代表者

松下 敦子 (MATSUSHITA ATSUKO)

総合研究大学院大学・先導科学研究科・助教

研究者番号：50450416

研究成果の概要（和文）：

弱電気魚は体表の異なる場所の信号間の微小時間差を利用して行動する。この時間差を見いだす神経回路を、異なるグループの2種（ジムナルカス、ブラチハイポポマス）において神経解剖学的に調べた。その結果、いずれの種にも共通して、時間情報を担う2種類の神経が小型の細胞1個に収束するという基本形態の神経回路があることがわかった。ジムナルカスでは、小細胞への2つの入力のうち、一方は抑制性であった。一方、ブラチハイポポマスの2つの入力とはともに興奮性であり、種によって異なる方法で時間差比較を行っていることを見いだした。

研究成果の概要（英文）：

Weakly electric fish shows behavioral sensitivity to microsecond time difference between electrosensory signals from different body areas. The hypothetical time comparison circuit consists of two types of time-coding neurons and a small cell, to which the two time-coding neurons converged. Here I studied the type of synaptic transmission in the time-coding circuit in two species. I immunohistochemically found that one of the inputs of the time-coding neuron is inhibitory in *Gymnarchus* (mormyrid). However, in *Brachyhypopomus* (gymnotiform), conventional electron microscopy showed that both inputs are excitatory. This comparative analysis revealed that the topologies of time coding neurons are identical in all major groups of other weakly electric fishes so far studied. However, the modes of synaptic transmission to the small cell, a time comparator, are different between species.

交付決定額

(金額単位：円)

|        | 直接経費      | 間接経費      | 合計        |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 2010年度 | 1,700,000 | 510,000   | 2,210,000 |
| 2011年度 | 1,200,000 | 360,000   | 1,560,000 |
| 2012年度 | 700,000   | 210,000   | 910,000   |
| 年度     |           |           |           |
| 年度     |           |           |           |
| 総計     | 3,600,000 | 1,080,000 | 4,680,000 |

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学

キーワード：弱電気魚、神経伝達物質、時間情報、抑制性シナプス、聴覚系

1. 研究開始当初の背景

本研究は生物による時間情報処理の機構

解明の一環として、弱電気魚の電気感覚行動の解析を目的とする。弱電気魚は尾から微弱的な電気を発生して、体の周囲に電場をつくり、周囲の物体等による電場の歪みをフィードバック信号として受容して、環境の把握や、他個体とのコミュニケーションに役立てる。これらの弱電気魚の電気感覚行動には、体表の異なる場所で受容された電気感覚信号間の1ミリ秒以下の時間差が必須である。

これまでの研究から、ジムナルカス（モルミリ目）では、後脳に1ミリ秒以下の時間差に応答する神経回路があることがわかった（Matsushita and Kawasaki 2004, 2005）。すなわち、体表のある場所由来する電気信号の時間成分をコードする感覚神経は、後脳に入ると分岐し、一部は同側の内細胞層に並ぶ小型の細胞（‘卵形細胞’）に投射し、また一部は同側の大型の二次細胞（大細胞）に投射する。大細胞も軸索を伸ばして両側の小細胞に投射する。感覚神経も大細胞も、時間情報を活動電位の発火タイミングにコード（フェーズロック）して情報を送っている。従って、小細胞は、体の異なる場所からの時間情報の入力時間差を何らかの方法で「比べている」と考えられる。これは聴覚系にも見られる仕組みで、たとえばメンフクロウの音源定位行動で知られている一致検出細胞のように、左右の耳からの情報の入力タイミングを比べている細胞に相当する。弱電気魚において、この時間比較を行う神経回路および小型の細胞は、これまでも他種で形態的に報告されているものの、機能を示した例はほとんどない。そこで本研究では、(1)時間比較の方法が何であるかを、伝達物質の抗体やシナプス関連マーカーを用いて免疫組織化学的に解明することにした。

弱電気魚には、発電信号の表現型（パルス型、ウェーブ型）や系統（ジムノティ目、モルミリ目）から大きく4つのグループに分けられる。4グループのうち、ジムノティ目パルス魚では、これまで、電気感覚行動には時間情報は用いられないと考えられてきた。しかしながらこのグループに属するブラチハイポポマスにも高感度の時間感覚があることが、行動学・生理学的解析により明らかになった。そこで、当初の計画を若干変更し、この魚の(2)時間情報処理初期中枢の神経解剖学的基盤を明らかにし、ジムナルカス及び他のグループと比較することにした。

## 2. 研究の目的

弱電気魚の時間比較に関わる神経回路の機能的特徴を明らかにするため、(1)ジムナルカス (*Gymnarchus niloticus*, モルミリ目) 後脳内細胞層における時間情報処理神経回路の伝達物質及び関連分子の局在解析を行い、また、時間比較の神経回路を種間で比較するため、(2)ブラチハイポポマス (*Brachyhyppopomus gauderio*, ジムノティ目) 中脳における時間情報処理神経回路を解剖学的に調べ、時間情報処理機構の共通原理を見いだすことを目的とする。

## 3. 研究の方法

(1)ジムナルカス後脳内細胞層の伝達物質関連分子の局在解析

神経伝達物質およびその関連マーカーに対する抗体を用いて、ジムナルカス後脳の切片に対して免疫染色を行った。その後、アビジン-ビオチン発色系で可視化し、顕微鏡観察を行った。さらに必要に応じて、電顕観察用の処理を行って、詳細な局在調査を試みた。

(2)ブラチハイポポマス中脳における時間情報処理神経回路の解剖学的解析

ジムナルカスでは、時間情報処理の初期中枢が後脳にあり、そこに時間型感覚神経が直接投射しているのに対し、ブラチハイポポマスでは時間型感覚神経は後脳で二次神経（梨形細胞）にリレーし、かわって梨形細胞が、時間情報処理の初期中枢に投射する。実験ではビオチン系トレーサーを、後脳電気感覚側線葉、および中脳の大細胞核（MMN）に注入した。実際には、脳の目的の場所に、目視でトレーサーの顆粒を挿入、または、神経応答を指標にして、電気泳動的に細胞内/細胞外注入を行った。その後、アビジン-ビオチン発色系で可視化して、顕微鏡観察した。さらにシナプス形態を調べるために、電顕観察を行った。

## 4. 研究成果

(1) ジムナルカス後脳内細胞層の伝達物質関

## 連分子の局在

弱電気魚の時間比較神経回路のシナプス伝達に動員される分子の調査は初めての試みである。実験の結果、ジムナルカスの時間比較神経回路には、抑制性シナプス伝達が関わっていることがわかった。すなわち、小細胞に入力する2つの神経終末のうち、大細胞にグリシンの強い免疫反応性がみられたのである。もう一方の神経終末は感覚神経そのものであることから、興奮性と考えられる。従って、小細胞に対して、興奮性と抑制性の時間情報の入力があるといえる。このパターンは、哺乳類の聴覚系における両耳時間差検出のしくみと共通している。さらに、大細胞にはカルシウム (Ca) 結合タンパク質であるパルプアルブミンが豊富であり、時間型感覚神経に豊富であるカルレチニン(Friedman and Kawasaki 1997)とは異なることから小細胞への2つの入力の質が異なることの裏付けとなった。また、他の弱電気魚のフェーズロック型神経にもカルビンディンやカルレチニンといったCa結合タンパク質が豊富であることは示されていたが、抑制性神経と関連のあるパルプアルブミン性のフェーズロック型神経は初めての知見である。また小細胞の樹状突起や細胞体には、 $\gamma$ -アミノ酪酸(GABA)、グルタミン酸脱炭酸酵素の強い免疫反応性がみられた。一方、感覚神経の終末にGABA-A受容体の免疫反応性が観察されたことから、GABAが小細胞から感覚神経の終末へのフィードバックに関わっている可能性が示唆された。

## (2) ブラチハイポポマス中脳における時間情報処理神経回路

時間型感覚神経は後脳において「梨形細胞」と1対1接続し、かわって梨形細胞は中脳のMMNに投射し、そこでいくつかの側枝に分岐し、一部は大細胞の細胞体に電気シナプスを介し、他方は小細胞の樹状突起に興奮性シナプスを介してそれぞれ入力していた。また大細胞も小細胞の細胞体に電気シナプスを介して接続していた。梨形細胞、大細胞は時間型感覚神経と同様フェーズロック型の神経であり、時間情報をコードしている。したがって、1個の小細胞は、大細胞と梨形細胞の二つの入力を受けており、これらが中脳で時間比較神経回路を構成しているといえる。

ジムナルカスとブラチハイポポマスの「時間比較神経回路」を構成する細胞は他の弱電気魚グループのそれらと共通性が高いことがわかった。すなわち、(1) 小細胞1個に対して、2種類の時間をコードする神経が入力する、(2) 2つの入力神経のうち、一つは、その細胞体がきわめて大型で、一方、2つの入力を受ける細胞の細胞体は小型である、などである。さらに、その伝達様式は種あるいはグループによって異なることも見出した。すなわち、ジムナルカスでは、小細胞に対し、興奮性と抑制性の入力が入っている。一方、ブラチハイポポマスではどちらも興奮性と考えられる。聴覚系でも鳥類と哺乳類とでは両耳の時間差比較の仕方が異なる。弱電気魚においても、一つの機能(時間比較)について複数の方法が、種依存的に用いられているかもしれない。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計6件)

1. Matsushita A, Pyon G, Kawasaki M (2012) Time disparity sensitive behavior and its neural substrates of a pulse-type gymnotiform electric fish, *Brachyhyppopomus gauderio*. *Journal of Comparative Physiology A*  
DOI: 10.1007/s00359-012-0784-4 (査読有)

[学会発表] (計9件)

1. Matsushita A, Kawasaki M: The small cell - a convergent site of two types of time-locked neurons in the midbrain of a weakly electric fish, *Brachyhyppopomus gauderio*. 日本比較生理生化学会第34回大会 2012年7月, 総合研究大学院大学, 葉山
2. 松下敦子, 川崎雅司: 弱電気魚ブラチハイポポマスの中脳における時間情報処理経路. 日本動物学会第82回大会, 2011年9月, 旭川市大雪クリスタルホール, 旭川
3. 松下敦子: 弱電気魚の微小時間情報処理機構の比較解剖学. 第11回日本比較三学会合同シンポジウム, 2010年11月, 静岡グランシップ, 静岡 (招待講演)

4. Matsushita A, Kawasaki M: Histological studies for time-coding pathway in pulse-type Gymnotiform fish, *Brachyhyopomus gauderio*. 9<sup>th</sup> International Congress of Neuroethology, Aug 2010, Salamanca, Spain
  
5. Kawasaki M, Matsushita A: Representation of accurate timing by time-locked neurons in the midbrain of a pulse type electric fish, *Brachyhyopomus gauderio*. 9<sup>th</sup> International Congress of Neuroethology, Aug 2010, Salamanca, Spain

〔図書〕（計 1 件）

1. 松下敦子（2010）：電気を出す一弱電気魚の発電行動と電気感覚 「いろいろな感覚の世界-超感覚のしくみを探る-」（江口英輔・蟻川謙太郎編）学会出版センター

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

松下 敦子 (MATSUSHITA ATSUKO)

総合研究大学院大学・先導科学研究科・助教

研究者番号：50450416

##### (2) 研究分担者

なし

##### (3) 連携研究者

なし

##### (4) 研究協力者

川崎 雅司 (KAWASAKI MASASHI)

米国バージニア州立大学・生物学部・教授