

平成21年 6 月 5 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19570064

研究課題名（和文）他個体との社会的接触に伴うザリガニ逃避行動馴化の可塑的な変化

研究課題名（英文）Change in habituation of crayfish escape behaviour according to social contact with other crayfish

研究代表者

長山 俊樹（NAGAYAMA TOSHIKI）

山形大学・理学部・教授

研究者番号：80218031

研究成果の概要：

研究成果の概要：他個体との社会的接触によって優劣地位が成立した後、ザリガニの逃避行動馴化の成立及びその維持過程にどのような可塑的な変化が起こるのか解析した結果、優位・劣位個体ともコントロール個体に比べ有意に馴化成立過程が遅れることがわかり、その効果は再隔離後も一週間以上持続することも判明した。セロトニン・オクトパミン存在下でも、同様の馴化成立過程の遅れが確認され、セロトニンの効果はcAMPを介したカスケードが、一方オクトパミンの効果はIP3を介したカスケードが活性化されることで引き起こされることを明らかにした。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：神経行動学

科研費の分科・細目：基礎生物学・動物生理・行動

キーワード：ザリガニ、可塑性、神経修飾作用

1. 研究開始当初の背景

(1) 動物はある特定の刺激に対し定型的な行動をよくしめすが、その応答パターンは常に同じではなく、その時の環境条件、内的動機付け、加齢・経験、他個体との社会的接触などによって変化する。

(2) ザリガニは尾部への弱い機械的接触刺激に対して回避行動をしめす。この行動は他個体の後方からの接近時によく見られ、小型ザ

リガニは逃避型のダート応答を、大型ザリガニは防御型のターン応答をしめす。

(3) 一方、後方からの捕食者の攻撃のような尾部へのより強烈な刺激に対して、ザリガニは腹部を素早く屈曲させて前方宙返りしながら体の向きを反転、後方へ遊泳するテイルフリップを伴った逃避行動を行う。この時、ラテラル・ジャイアント（LG）と呼ばれる巨大介在ニューロンが司令ニューロンとして機能しており、LGがスパイクを発することで

その後の一連の動きが引き起こされる。しかし、繰り返し刺激が与えられると、LGは全くスパイク応答しなくなり、逃避行動の馴化が起こる。

(4) ゼリガニは他個体との社会的接触によって縄張り闘争を起こし、優劣関係が成立する。単独飼育時には専らダート応答をしめす小型ゼリガニも、闘争の結果社会的に優位な地位に立つと大型ゼリガニがしめすようなターンで応答するようになり、その行動パターンは可塑的に切り替わる。

2. 研究の目的

(1) 他個体との社会的接触によって優劣地位が成立した後、ゼリガニの逃避行動馴化の成立及びその維持過程にどのような可塑的な変化が起こるのか、主に行動学的・神経生理学的・神経化学的手法を用いて解析し、その行動切り替えの神経スイッチ機構を解明することを目的に研究を遂行した。

(2) しばらく単独飼育していた二匹のゼリガニを同じ水槽に入れると、両者はすぐに接近し闘争を開始する。その闘争は数十分で終了し、優位・劣位という社会的地位が成立する。その後、優位個体は劣位個体を追いかけ回し、劣位個体は優位個体の接近を察知するとすぐにその場から立ち去るようになる。このように優劣地位成立により、それぞれのゼリガニの攻撃性に著しい違いが見られるようになり、それは逃避行動馴化の成立・維持過程に大きな影響を及ぼしているはずである。優劣成立前後で馴化成立及びその維持過程にどのような変化が生じているのか、まず明らかにする。

(3) 甲殻類においては生体アミンの一種のセロトニンとオクトパミンが優劣形成に深く関与していると考えられており、生体内へのセロトニン投与により優位個体様の、一方、オクトパミン投与により劣位個体様の姿勢が生じることが知られている。そこで第二に、それらセロトニン・オクトパミンが実際に優劣形成に関与しているのか、セロトニン・オクトパミンの中枢内灌流に対する神経回路、特にLGニューロンの応答性の変化を神経生理学的に解析し、優劣成立時のそれと比較・検討する。

(4) 優位優位個体のダートからターンへの応答切り替えはペアリングが持続されている限り維持され、再び単独飼育に戻しても少なくとも三日間は維持される。優劣成立後、この逃避行動の馴化成立過程の変化がどのくらい維持・記憶されているのか、行動学・神経生理学的に解析し、回避行動切り替えの神経機構との間で比較し、神経スイッチ機能の

基本的原理を解明する。

3. 研究の方法

(1) 水槽内を自由に歩ける状態のゼリガニに外科的処置を施し、刺激用・記録用の慢性電極を尾部及び腹部に埋め込み、逃避行動発現の司令ニューロンであるLGのスパイク活動を細胞外誘導すると共に、尾部へ電気刺激を与えられるようにし、優劣成立前後でのゼリガニのLGスパイク閾値に変化があるか否かを検証した。

(2) ゼリガニの神経単離標本を作成し、尾部の機械感覚毛支配の腹部最終神経節神経根の感覚神経束を電気刺激し、LGからそのスパイク応答を細胞内記録する。刺激強度を徐々に上げ、LGがスパイク応答する閾値をちょうど越えた時点で刺激強度を固定、繰り返し刺激を与え、毎回の刺激に対するLGの応答を記録する。何回目の試行でLGがスパイク応答しなくなるか解析し、それぞれの馴化曲線を作成、馴化の成立過程を定量化する。優劣成立前の単独飼育時のゼリガニ(コントロール)、闘争後優位となった個体、劣位個体の間に統計学的に有意な違いが見られるか否かを検証した。

(3) 優位個体のダートからターンへの応答切り替えは再隔離後少なくとも三日間は維持される。優劣成立後、この逃避行動の馴化成立過程の変化がどのくらい維持されているのか、再隔離後一日、三日、五日、一週間、十日と時間を追って馴化曲線を作成し、その維持機構を定量的に比較・検討した。

(4) セロトニン・オクトパミン灌流下で繰り返し刺激に対するLGのスパイク応答を解析、優劣個体同様の馴化成立過程の修飾が見られるかを検証した。さらに、セロトニン・オクトパミンの中枢内投与後感覚刺激に対するLGのスパイク・シナプス応答がどのように変化するか、比較検討した。

(5) セロトニン・オクトパミンは中枢内で二次メッセンジャー系を活性化させるので、c AMP、NO-c GMP、IP3系などの関与を作動薬・拮抗薬投与等によって検証した。

4. 研究成果

(1) 電極を埋め込み、LGの活動を長時間モニターしながら、水槽内をアメリカゼリガニが自由に歩行できる装置の開発を目指し、実用化できる一歩手前まで来た。まだSN比が悪く、改善の必要性はあるが、闘争中のアメリカゼリガニの行動パターンとLGの活動

性の相互作用についてある程度解析することに成功、今後さらに改良を加えていきたい。(2)腹部単離標本を用い、5秒間隔で尾扇肢感覚神経束に繰り返し電気刺激を与えると、コントロール個体(単独飼育個体)の場合、5回以内に半数以上の個体で、刺激に対し、LGは発火せず、馴化が起こった(図1)。その後の刺激で馴化する個体もゆっくりと増加し、40回の刺激までに約80%の個体が馴化した。

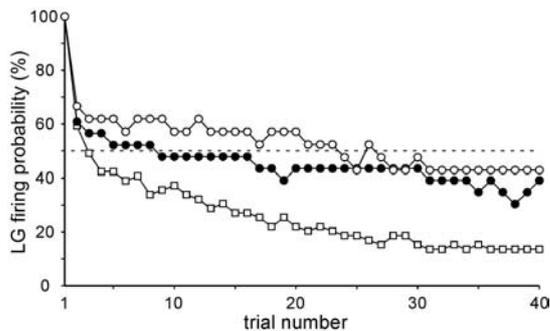


図1 優(□)・劣位(○)並びに単独飼育個体(△)の馴化曲線

(3) 1ヶ月以上単独飼育していたほぼ同じ体長のザリガニ(実験にはオス個体のみを使用)を二匹、一つの水槽に入れると、すぐにお互い接近し、鋏を振り上げ闘争行動を始めた。平均15分で優位・劣位という個体間地位が決定し、優位個体はその後劣位個体を追いかけて回し、劣位個体は優位個体から避けるように、その行動パターンが変化した。

(4) 優劣成立後、優劣個体はそれぞれ1時間以上再隔離し、コントロール個体同様腹部単離標本を作成し、LGの馴化曲線を作成した。その結果、劣位個体では約半数の個体が馴化を示すのに、25回以上の繰り返し刺激が必要で、40回の連続刺激に対しても40%以上の個体でLGはスパイク応答を示した(図1)。一方、優位個体についても劣位個体とほぼ同様の馴化曲線を示した(図1)。10数回の刺激で約50%の個体は馴化を示したが、その後40回刺激になってもLG発火率はそれ程低下しなかった。log-rankテストを用い、統計学的に検討したところ、コントロール個体に比べ優位・劣位個体群は有意に馴化成立が遅くなっていた($p < 0.05$)が、優位・劣位個体間では有意な違いは見られなかった。

(5) 優劣個体になることで、馴化成立の抑制がどれくらい維持されているか調べるため、馴化成立後1週間再隔離した優劣個体を用い、コントロールとの間に馴化曲線に違いが見られるか検討したところ、図2のような結

果になった。

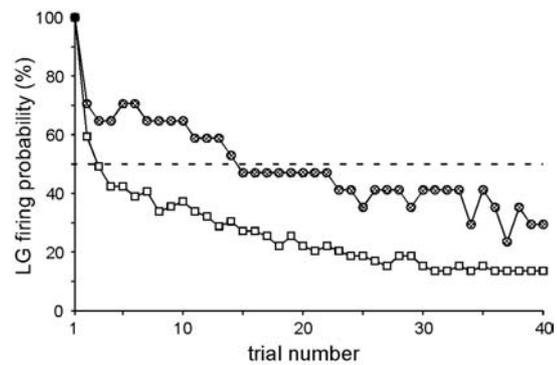


図2 優劣成立後再隔離し1週間経過したザリガニ(○)と単独飼育ザリガニ(□)の馴化曲線

再隔離後一週間経過していても、明らかにコントロールに比べ有意に馴化成立過程が抑制されていることが分かり($p < 0.05$; log-rankテスト)、優位・劣位個体になったことで引き起こされた生理状態の変化は一週間以上維持されていることが判明した。

(6) セロトニン・オクトパミンの中枢内投与はザリガニにそれぞれ優位個体様、劣位個体様の姿勢変化を引き起こした(図3)。

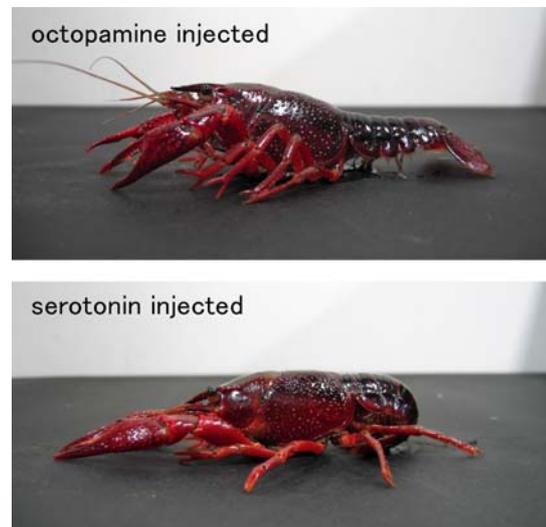


図3 セロトニン、オクトパミンの生体内投与によるザリガニ姿勢の変化

(7) セロトニン、オクトパミンを灌流し、馴化実験を行ったところ、コントロールに比べ、馴化成立までの過程がセロトニン、オクトパミン存在下で明らかに遅くなり(図4)、統計的にも有意に遅っていた($p < 0.05$; log-rankテスト)。コントロールでは5回以下の刺激で50%以上のザリガニが馴化するのに対し、図1の優位、劣位個体同様セロ

トニン存在下()、オクトパミン存在下()
では50%のザリガニが馴化するには15
回以上の刺激が必要で、40回の連続刺激で
も30%以上の個体は馴化しなかった。

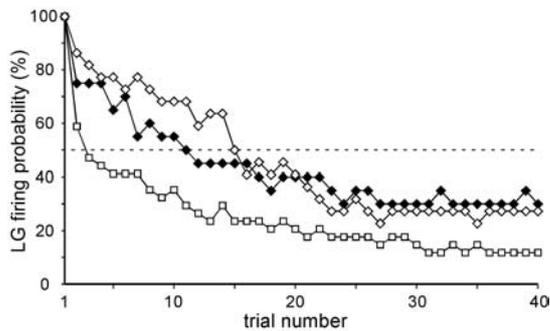


図4 セロトニン()、オクトパミン()存
在下とコントロール()での馴化曲線

(8)セロトニン、オクトパミンは二次メッ
センジャー系を介して神経修飾作用を示すこ
とが知られている。二次メッセンジャー系の
酵素活性化を阻害する薬剤の灌流実験より、
セロトニンの効果はcAMPを介したカスケ
ードが、一方オクトパミンの効果はIP3を介
したカスケードが活性化されることで引き起
こされることが明らかになった。

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)

〔図書〕(計 2件)

長山俊樹、北海道大学出版会、ザリガニの
生物学、2009年印刷中

長山俊樹、NTS、昆虫ミメティックス、2008
年 533-541

〔その他〕

ホームページ

<http://s-crawfish.kj.yamagata-u.ac.jp/welcome.htm>

6. 研究組織

(1)研究代表者

長山 俊樹 (NAGAYAMA TOSHIKI)

山形大学・理学部・教授

研究者番号：80218031