

## 陸生軟体動物チャコウラナメクジの前脳葉における電気生理学的研究 Electrophysiological study of the procerebral lobe in terrestrial slug *Limax marginatus*

田中 裕一<sup>1</sup>, 浜崎 雄太<sup>2</sup>, 斎藤 稔<sup>2</sup>, 小松崎 良将<sup>3</sup>Yuichi Tanaka<sup>1</sup>, Yuuta Hamasaki<sup>2</sup>, Minoru Saito<sup>2</sup>, Yoshimasa Komatsuzaki<sup>3</sup>

The terrestrial slug has a highly developed ability to learn odors with a small nervous system. The procerebral (PC) lobe, an olfactory center of the slugs, exhibits intrinsic oscillation in its field potential. We performed extracellular recordings and optical recordings in the PC lobes to reveal a characteristic of the oscillatory activity. We used brain-tentacular nose preparations isolated from slugs, and investigated the olfactory responses of the oscillations in the local field potential of the PC lobe.

### 1. はじめに

学習・記憶に代表されるような中枢神経系の機能における研究は、様々な動物種で進められてきた。この神経機能の解明には、脳の階層性が重要である。すなわち、「個体レベルの行動変化」⇔「神経回路レベルの可塑的現象」⇔「ニューロン（神経細胞）間及びニューロン内での情報伝達系の変化」⇔「遺伝子発現（分子レベル）」の一連の機構を理解しなければならない。哺乳動物の脳は、細胞数が非常に多く（例えば、ヒトの場合数百億以上）、その一個一個が数千個以上の細胞と神経結合している非常に複雑な構造を持つので、その脳を理解するのは容易ではない。一方、軟体動物（カタツムリ、ナメクジ、アメフラシ等）の脳（神経節）は、神経細胞の数が少なく（1つの神経節でニューロンが数百〜数千個程度）、神経回路が比較的単純であるので、その理解が比較的容易である。また、ニューロンが比較的大きいので、微小ガラス電極を用いた電気生理測定による個々の細胞の活動を調べたり、組織学的研究による神経回路の同定が行われてきた。加えて、生体から取り出した神経節標本を生理食塩水でシャーレ上にて長時間生かしておくことも可能である。

これらの点に加えて、軟体動物はある特定の学習行動に伴って生じる、単一のニューロンレベルやシナプスレベルでの電気的活動の変化を捉えることができるという利点もある。

ナメクジの中枢神経系で特に特徴的なのが、前脳葉と呼ばれる脳内部位である (Fig. 1)。ナメクジに匂い物質を適用すると、その匂い分子は触覚の先端にある嗅覚受容器である嗅覚性上皮で感受され、その情報は中枢神経系に伝わる。匂いの情報は中枢神経系にある前脳葉の表面から局所場電位(Local Field Potential; LFP)の振動周波数変化として記録できる。その周波数は通常は0.6~0.8 Hz程度で、ほぼ一定であるが、匂い刺激を与えられたとき、その好みによって大きさが変わる<sup>[1][2]</sup>。また、Kleinfeldらによって、前脳葉の先端部と基部のLFP振動に位相差が存在することが報告されている<sup>[3]</sup>。本研究では匂い物質を当てたときのナメクジの局所場電位の振動周波数変化の振る舞いを電気生理学的に研究した。

### 2. 実験方法

本研究では、ナメクジの一種であるチャコウラナメクジを用いた。以下では、チャコウラナメクジをナメクジと表記する。ナメクジにニンジンの匂い提示と苦味物質であるキニジン投与とを関連付けて学習させる連合学習を施し、ニンジンの匂いを避けるように条件付けさせた。連合学習のあと、時間を空けて再び嫌悪条件付け学習に用いた匂い物質を与えた時の行動を観察することで、学習が成立しているかを確認するためのテストを行った。テスト後、解剖によりナメクジから摘出した前脳葉と触覚のついた試料に、匂い物質を与え、前脳葉の表面からの局所場電位の振動周波数を記

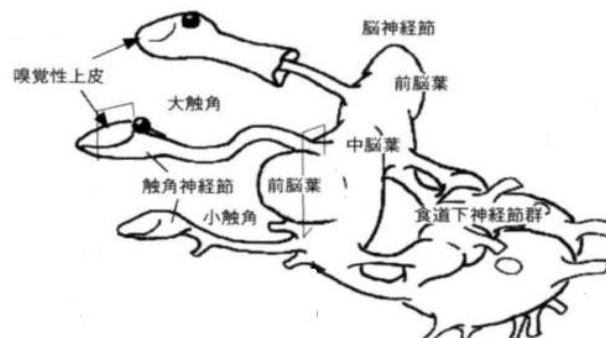


Figure.1 Central nervous system of the slug

1 : 日大理工・院 (前)・物理 2 : 日大・総合基礎科学・相関理化 3 : 日大理工・教員・物理

録した。また、本研究では嫌悪条件付け学習で用いていない匂い物質 シネオールも同様に適用された。この匂い物質は、カタツムリに適用された実験で前脳葉の周波数が変化することが報告されている<sup>[4]</sup>。

### 3. 結果

ニンジンの匂いに対する嗜好性は、5回のテストで匂い源に近づいたとき、匂い源に触れた割合と定義した。ニンジンの匂いに対する嫌悪条件付けを行ったナメクジはニンジンに対する嗜好性が著しく減少した(Fig. 2)。naïve は匂いに対する嫌悪条件付けを行っていないナメクジのグループ (25 匹) であり、ナメクジ本来のニンジンの嗜好性を表している。CQ (carrot, quinidine) は嫌悪条件付けを行ったナメクジのグループ (13 匹) であり、ナメクジのニンジンの匂いに対する嫌悪条件付けの学習効果を表している。Fig. 2 の各々のエラーバーは標準誤差を示す。

電気生理実験では摘出した試料に匂い刺激を与えて、前脳葉の局所場電位を記録した(Fig. 3)。

Fig. 3 は、横軸は時間 [min]、縦軸は局所場電位 [mV] を表している。ニンジン、シネオールの匂い提示は局所場電位の周波数変化を引き起こした。

### 4. まとめ

神経回路の活動様式を理解するためには、多数のニューロンを同時計測する必要がある。そこで、本研究では膜電位イメージング測定系を用いて、ナメクジ前脳葉の広域膜電位計測を行った。その結果、局所場電位のピークに対応して、高い蛍光強度を示すことが分かった(Fig. 4)。

謝辞 本研究の一部は日本大学学術研究会助成 (総合研究「総 11-002」) の援助を受けて行われた。

### 5. 参考文献

- [1] T Kimura *et al.*, “Behavioral Modulation Induced by Food Odor Aversive Conditioning and its Influence on the Olfactory Responses of an Oscillatory brain Network in the Slug *Limax marginatus*”, *Learn Mem*, vol.4, No.5, pp. 365-375, 1998
- [2] 山口恒夫, 富永佳也, 桑澤清明; 「もうひとつの脳」, 培風館, 2005
- [3] D. Kleinfeld *et al.*, “Dynamics of propagating waves in the olfactory network of a terrestrial mollusk: an electrical and optical study”, *J. Neurophysiol*, 72, pp. 1402-1419, 1994
- [4] E. S. Nikitin and P. M. Balaban.; “Optical Recording of odor-Evoked Responses in the olfactory brain of the naïve and Aversively trained terrestrial snails.” *Learning and Memory*, vol.7, No.6, pp. 422-432, 2001

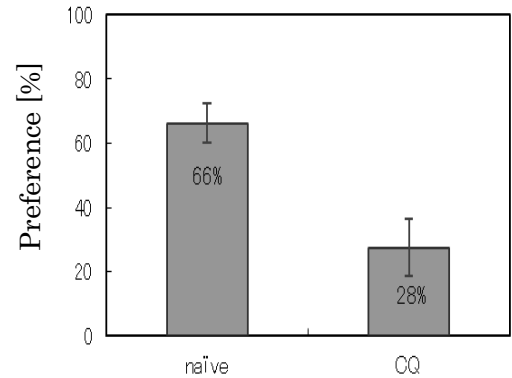


Figure.2 Influence of food odor aversive conditioning

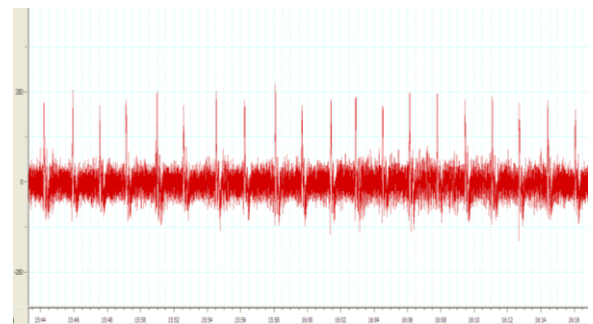


Figure.3 Local field potential in the PC

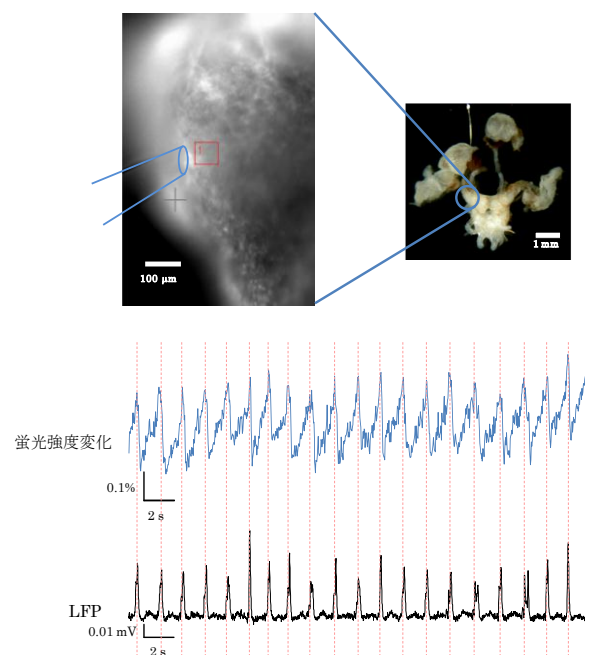


Figure.4 Optically recorded electrical activity of PC