HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	昆虫の脳のキノコ体のモジュール構造
Author(s)	水波, 誠; 岡田, 龍一
Citation	電子科学研究, 5, 10-13
Issue Date	1998-01
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/24402
Type	bulletin (article)
File Information	5_P10-13.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

昆虫の脳のキノコ体のモジュール構造

神経情報研究分野　水波誠、岡田龍一

昆虫の脳にはキノコ体と呼ばれる中枢がある。キノコ体は種々の連合記憶の成立に深く関わるとともに、高次の運動制御にも関与する。我々はワモンゴキブリのキノコ体の出力部位に多数の単位構造（ここではスラブと呼ぶ）の繰り返しがあることを見い出した。キノコ体の出力部位である柄、アルファ葉、およびベータ葉の全長にわたり、明るいスラブと暗いスラブが１５枚づつ交互に並んだ層構造が観察された。それぞれのスラブはそれぞれ別々の内在ニューロン（ケニオン細胞）群から形成されていた。ケニオン細胞からシナプスを受ける出力ニューロンのあるクラスのものはスラブの幅に対応して分節化した樹状突起をもち、特定の幾つかの明スラブまたは暗スラブのみからシナプス入力を受けると考えられた。スラブはキノコ体からの出力の単位を成す構造であると結論づけられた。

1　はじめに

昆虫の脳のキノコ体と呼ばれる中枢が匂いの記憶の成立に深く関わることは以前から知られていたが[1],[2]、最近筆者らは、ワモンゴキブリを用いた研究により、キノコ体が視覚的な手がかりを用いた場所記憶や歩行運動の高次制御にも深くかかわることを明らかにしている[3]。系統発生学的にはキノコ体は節足動物の進化の初期において匂いの情報処理に関わる中枢として出現したものが、後に多種の感覚中枢からの入力を受ける多種感覚性の連合中枢へと進化してきたと考えられ、脊椎動物の大脳皮質と類似した進化的な歴史を持つ。

キノコ体は入力ニューロン、内在ニューロン（ケニオン細胞）、出力ニューロンの３種類のニューロンからなる。種々の感覚中枢から発する入力ニューロンは傘と呼ばれるキノコ体の入力部位（図２Ａ）に投射し、ここでケニオン細胞の樹状突起にシナプス結合する[4],[5]。ケニオン細胞の軸索は柄を通ってその基部で２又に分岐し、一方はアルファ葉を、他方はベータ葉を走行する（図１，２Ｂ）。柄、アルファ葉、ベータ葉はキノコ体の出力部位で、ここでケニオン細胞は出力ニューロンの樹状突起とシナプス結合する[6]。出力ニューロンは主に脳の前運動中枢に投射し、脳から胸部神経節へ下降する前運動ニューロンの活動を制御する[6]。最近、ショウジョウバエの突然変異を用いた研究によりキノコ体での短期記憶や長期記憶の細胞機構や分子機構に関する研究が進展し[2]、昆虫のキノコ体は記憶のしくみを分子レベルで解明するための有用なモデル系として注目されている。ミツバチやショウジョウバエではケニオン細胞のタイプによってキノコ体が３ないし４つの領域に分割されているのが知られているが[2],[4]、キノコ体のそれ以上の微細な内部構造については報告されていない。そこで我々は、福岡大学理学部生物学教室の岩崎雅行、西川道子両博士と共同で、ケニオン細胞の数が既知の昆虫種の中で最も多い（２０万個）ワモンゴキブリに着目し、ゴルジ染色法、オスミウムーエチルガレート染色法、および渡銀染色法を用いてそのキノコ体の内部構造について詳細な検討を行った[7]。

2　実験

研究には雄および雌のワモンゴキブリの成虫を用いた。冷却麻酔したゴキブリの頭部を切断してワックスを敷いた小シャーレ内に固定し、頭部前面のクチクラを除去して脳を露出させた。オスミウムーエチルガレート染色では、頭部を２％グルタールアルデヒドと１％パラホルムアルデヒド を含むカコジル酸緩衝液に１時間浸し、その後、脳を摘出した。摘出した脳を２％オスミウム液に浸し、次に

0.5％エチルガレート液に１－２時間浸した後、脱水してパラフィン包埋し、12 μm の厚さに切片化した。渡銀染色では、脳を露出させた頭部をＦＡＡ液に２日間浸した後、脳を摘出、脱水、パラフィン包埋し、12 μm の厚さに切片化した後、Bodian 法または大塚変法で銀染色した。ゴルジ染色は Golgi-Colonneir および Mixed Golgi-rapid/Colonneir 法[8]に従った。ゴルジ染色した試料は脱水後、アラルダイト包埋し、50 – 100 μm の厚さに切片化した。試料は３Ｄ顕微鏡、ノマルスキー微分干渉顕微鏡、および光学顕微鏡で観察した。

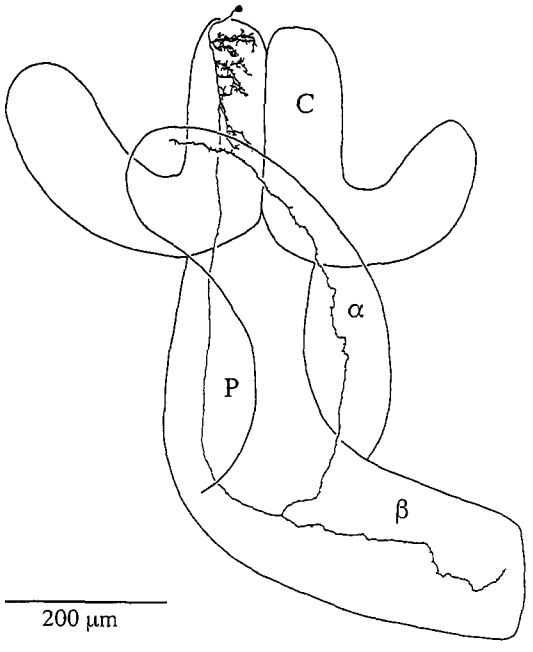

図１　キノコ体のケニオン細胞のスケッチ。ゴルジ染色したケニオン細胞を前額連続切片から再構成した。ケニオン細胞は傘の背部に細胞体を持ち、傘（C）のシナプス層に樹状突起を広げて入力ニューロンからシナプス入力を受ける。その軸索は柄（P）を通ってその基部で２又に分岐し、アルファ葉（α）およびベータ葉（β）を走行し、柄、アルファ葉、ベータ葉で出力ニューロンの樹状突起にシナプス結合する。

3　結果と考察

ワモンゴキブリのキノコ体は傘、柄、アルファ葉、ベータ葉の４つの領域からなる（図２Ａ，Ｂ）。傘はキノコ体の入力部位であり、柄、アルファ葉およびベータ葉は出力部位である。渡銀染色したワモンゴキブリのキノコ体のアルファ葉の水平断面には多数の明るい縞と暗い縞がほぼ等間隔で交互に並んでいるのが観察された（図２Ｃ）。ゴキブリのキノコ体の柄や葉で明暗の縞が見えることは古くから報告されているが[9],[10]、その組織学的な特徴については明らかにされていなかった。アルファ葉の断面（図２Ｃ）での観察から、縞の形状や幅は領域により異なることがわかる。縞は後部では弧を描き、前部に行くほどその曲率が小さくなって直線的になる。縞の幅は中央部では細く 3 – 4 μm 程度であり、前部や後部ではそれよりも太く、後端部で 7 – 15 μm 、前端部で 15 – 20 μm である。後端は明るい縞から始まり、前端は暗い縞で終わる。この標本では明るい縞が１５本、暗い縞が１５本、計３０本観察された。縞の数は通常３０本であったが、個体によって多少ばらつきが見られた。明暗の縞は渡銀染色標本で特に鮮明に観察されたが、トルイジンブルー染色標本、オスミウムーエチルガレート染色標本、ヘマトキシリン・エオシン染色標本、および無染色標本のノマルスキー顕微鏡観察でも観察された。

渡銀染色した脳の水平切片像（図２Ｃ）、前額切片像（図２Ｂ）、矢状切片像（図２Ｄ）の観察を総合すると、明るい層と暗い層が交互に並んだ層板構造はアルファ葉の全域で維持されていることが明らかになった。ここでは層をスラブ（厚板）と呼ぶことにする。図２Ｅはゴルジ染色したキノコ体のアルファ葉の矢状切片像であり、多数のケニオン細胞（図１）が平行して走るのが観察される。ケニオン細胞の走行の向きはスラブの走行の向きと一致しており、それぞれのスラブはそれぞれ別々のケニオン細胞により形成されていることがわかる。すなわち、アルファ葉ではケニオン細胞は並列に配置された約３０のスラブに組織化されている。

多数の渡銀染色標本を更に観察した結果、各々のスラブは出力部位全体、すなわち柄、アルファ葉、ベータ葉全体で連続していることが明らかになった。キノコ体の入力部位である傘では同様な層構造は見れらなかったが、個々のケニオン細胞の出力部位で占める位置と入力部位で占める位置には一定の対応関係があり、入力部位と出力部位のケニオン細胞の配列に写像関係があることがわかった。

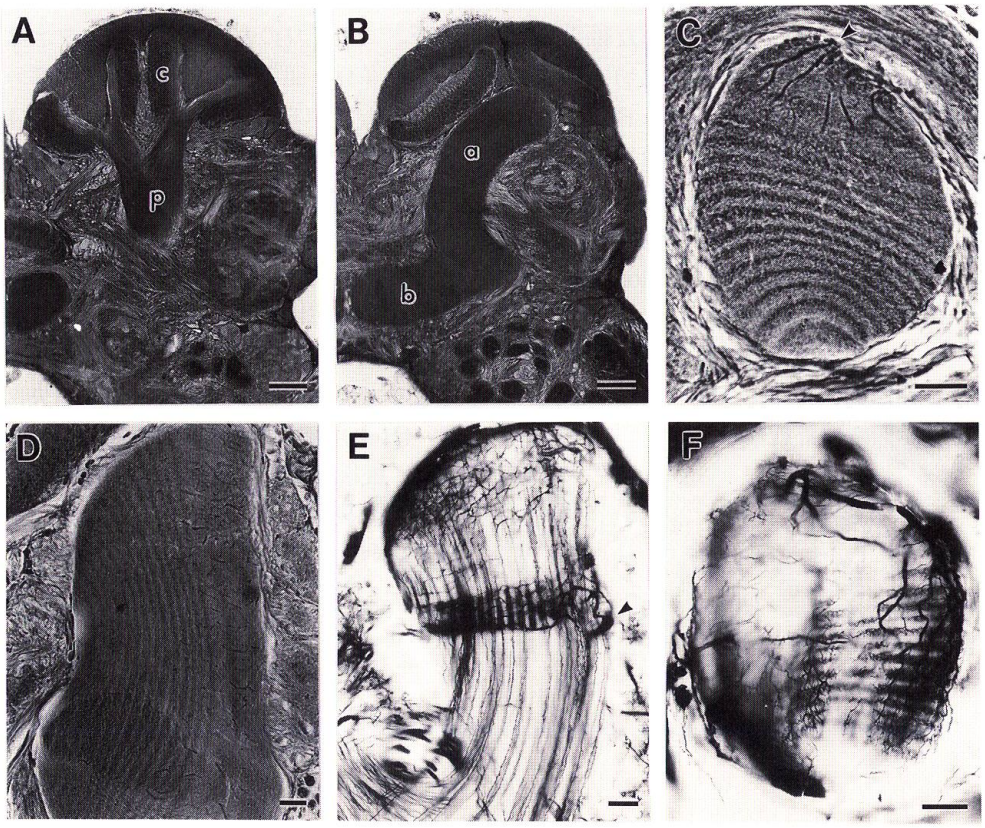

図２　Ａ、Ｂ：エチルガレート染色したゴキブリの脳の前額切片像。Ａは後方、Ｂは前方での切片像。脳の後方にあるキノコ体の傘（c）は、脳の前方のアルファ葉（ａ）およびベータ葉（ｂ）と柄（p）を介して接続している。Ｃ：渡銀染色したゴキブリのキノコ体のアルファ葉の水平断面写真。明るい縞と暗い縞が交互に見える。縞の形や幅は、前方部（写真の上部）、中間部、と後方部（下部）でそれぞれ異なっており、中間部で最も幅が狭い。出力ニューロンの太い枝が前端部からアルファ葉内に侵入する（矢印）のが観察される。Ｄ：渡銀染色したアルファ葉の矢状切片像。明暗の縞が１５本づつ見える。Ｅ：ゴルジ染色したケニオン細胞及びキノコ体出力ニューロンのアルファ葉での矢状切片像。多数の細いケニオン細胞が図の上下方向に平行に走行する。一方、前端部から１本の出力ニューロンの太い突起がアルファ葉に侵入する（矢印）。その樹状突起は明瞭な分節化を示す。Ｆ：アルファ葉での水平切片で観察された出力ニューロンの樹状突起の写真。樹状突起の分節の幅は渡銀染色で観察される縞の幅（C）とほぼ一致し、分節間の間隔は縞の間隔とほぼ一致する。スケールはＡ，Ｂでは 100 μm、Ｃ－Ｆでは 30 μm。

図２Ｅでは、出力ニューロンの太い枝が前端部からアルファ葉に侵入し（矢印）、ケニオン細胞の走行と垂直方向に枝を延ばすのが観察される。その樹状突起には、分枝が密な領域が一定の間隔を置いて繰り返し平行に配列する分節化が観察された。一部のケニオン細胞は樹状突起が密な領域を通過し、他の細胞は樹状突起間の間隙を通過するので、この出力細胞は一部のケニオン細胞群とシナプス結合し、他のケニオン細胞群とはシナプス結合しない。図２Ｆは別の出力ニューロンの樹状突起をアルファ葉の水平断面で観察したものである。樹状突起の密な領域の幅は渡銀染色試料で観察されるスラブの幅（図２Ｃ）と一致しており、分枝が密な領域間の間隔はスラブ間の間隔と一致している。このことは、この出力ニューロンが明スラブか暗スラブのいずれか一方のみからシナプス入力を受けることを示している。今回アルファ葉で観察された約５０例の出力ニューロンのうち約３５％のニューロンで同様な分節化した樹状突起が見られた。それらのニューロンの一部は明スラブからのみ、他の一部は暗スラブからのみ入力を受けると考えられた。それらのニューロンには、図２Ｆの出力ニューロンのように中央部に樹状突起を広げるもの、前端部に樹状突起を持つもの、

後端部に樹状突起を延ばすものなどがあった。また、図２Ｆの出力ニューロンのように１５－１６スラブにも及ぶ広い領域に樹状突起を延ばすものや、わずか２－３スラブ分の狭い領域に突起を広げるものなどがあった。我々は、スラブはキノコ体からの出力上の単位をなしており、個々の出力ニューロンはそれぞれ特定の組み合わせのスラブからの出力を前運動中枢などに伝えていると考えている。ベータ葉では、観察された約３０個の出力ニューロンのうち約２０％のニューロンで分節型の樹状突起が見られた。一方、柄で観察された１５個の出力ニューロンのうち分節型の樹状突起を持つ出力ニューロンは３例のみであった。

上記の研究により、ワモンゴキブリのキノコ体の出力部位では２０万個のケニオン細胞が約３０個のモジュール（スラブ）に組織化されていると結論づけられた。また、このモジュールはキノコ体からの出力の単位をなすと結論づけられた。このようなキノコ体のモジュール構造は他の昆虫ではまだ報告されていないが、ミツバチやコオロギでは免疫組織化学的な研究によりケニオン細胞には幾つかのグループがあることが示唆されており[11]、ゴキブリ以外の昆虫のキノコ体にもモジュール構造が存在する可能性が非常に高い。哺乳類の脳の記憶や運動制御の最高次中枢である大脳皮質にはコラムと呼ばれる構造単位があり、これが情報処理上の機能単位になっている。昆虫のキノコ体の構造単位は、哺乳類の大脳皮質のコラムと同様に、機能上の単位でもあるのであろうか。この点についての検討が今後の課題となる。

［参考文献］

[1] Erber, J., Masuhr, T. and Menzel, R.: Physiol. Entomol. 5, 343 (1980).

[2] Davis, R.L.: Physiol. Rev. 76, 299 (1996).

[3] Mizunami, M., Weibrecht, J.M. and Strausfeld, N.J.: In R.D. Beer, R. Ritzmann and T. McKenna (Eds.), Biological Neural Networks in Invertebrate Neuroethology and Robotics, Academic Press, Cambridge, pp.199 (1993).

[4] Mobbs, P.G.: Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. 298, 309 (1982).

[5] Strausfeld, N.J.: Atlas of an insect brain. Springer, Berlin (1976).

[6] Schürmann, F.W.: In A.P. Gupta (Ed.), Arthropod brain, Wiley, New York pp. 231 (1987).

[7] Mizunami, M., Iwasaki, M., Nishikawa, M., and Okada, R.: Neurosci. Lett. 229, 153 (1997).

[8]Strausfeld, N.J.: Neuroanatomical Techniques, Springer, Berlin (1980).

[9]Hanström, B.: Vergleichende Anatomie des Nervensystems der wirbellosen Tiere unter Berucksichtigung seiner Funktion, Springer, Berlin (1928).

[10]Weiss, M. J.: J. Comp. Neurol. 203, 515 (1981).

[11]Schürmann, F.W., and Erber, J.: Neuroscience 38, 797 (1990).