

## 論文審査の結果の要旨

氏名： 石田 康平

博士の専攻分野の名称：博士（理学）

論文題名：チャコウラナメクジの嗅覚中枢神経系における神経活動と一酸化窒素の時空間動態

審査委員：(主査) 日本大学教授 齋藤 稔  
(副査) 日本大学教授 澤田 博司  
(副査) 日本大学教授 間瀬 啓介

本論文の要旨は次のようにまとめられる。

嗅覚情報が脳内でどのように処理されているのか、嗅覚刺激によって神経活動がどのように変化するかを調べるには、構造が複雑な哺乳動物の中枢神経系は不向きである。そこで、哺乳動物に比べて単純な構造の中枢神経系をもちながら、記憶・学習といった高次脳機能を有する軟体動物を実験動物として用いた研究が行われている。軟体動物の中でもナメクジは嗅覚が優れており、前脳葉という嗅覚中枢神経系をもつ。一方、最近、一酸化窒素 (nitric oxide; NO) が神経伝達物質として注目され、嗅覚情報処理にも関係していることが示唆されている。本研究では、チャコウラナメクジ (以下、単にナメクジと略す) の前脳葉における神経活動と NO の時空間動態を調べることを目的として電気生理測定及び蛍光イメージング測定が行われ、その結果、ナメクジの匂い識別機構に関する新しい知見が得られた。本論文は以下の5章から構成される。

第1章では、序論として、軟体動物の神経系の特徴や実験動物として軟体動物を用いる意義について述べられている。特に本研究で実験動物としてナメクジを用いた意義として、ナメクジが優れた嗅覚をもち、また哺乳動物に見られる記憶・学習といった高次脳機能を有していることから、哺乳動物の嗅覚神経系のモデル実験動物として適していることが述べられている。そして、ナメクジの嗅覚中枢神経系である前脳葉に着目し、電気生理測定及び蛍光イメージング測定を用いて、匂い刺激や匂い嫌悪条件付け学習によって神経活動や神経伝達物質である NO の時空間動態がどのように変化するかを調べるのが本研究の目的であることが明確に述べられている。

第2章では、本研究で用いた電気生理測定及び蛍光イメージング測定の原理・方法・実験系について述べられている。特に蛍光イメージング測定が神経活動や NO の時空間動態を調べるために適した特長をもっていることが述べられている。また、それらの時空間動態を画像化するためのデータ処理の方法について述べられている。そして、蛍光イメージング測定として第3章では膜電位感受性蛍光色素による膜電位イメージングが、第5章では NO 感受性蛍光色素による NO イメージングが用いられたことが述べられている。また、単離脳標本系の作製方法及びそれに対して匂い刺激を行う方法や匂い嫌悪条件付け学習を行う方法が述べられている。

第3章では、単離脳標本系を用いて、匂い刺激や匂い嫌悪条件付けによる前脳葉における神経活動の変化を調べた。まず、電気生理測定を用いて前脳葉では局所場電位 (local field potential; LFP) に約 1 Hz の振動が生じていることを示し、膜電位イメージングを用いて前脳葉の先端部から基部に向かって神経活動が伝搬している様子を捉えることに成功した。そして、忌避性の匂い刺激 (0.1%ヘキサノールと玉ねぎ) によって LFP 振動の周波数が増加し、神経活動の伝搬速度が増加することを明らかにした。一方、誘引性の匂い刺激 (ニンジンとキュウリ) ではそのような神経活動の変化は見られなかった。さらに、ニンジンの匂い刺激直後に味覚受容器の神経線維に対して電気刺激を与えることにより、単離脳標本系で匂い嫌悪条件づけを行った。単離脳標本系を用いることにより、同一個体で条件づけ前後の神経活動の変化を調べることを可能にした。条件づけ後、再び誘引性の匂い刺激 (ニンジンとキュウリ) を与えた結果、ニンジンに対してのみ LFP 振動の周波数と神経活動の伝搬速度が増加することを明らかにした。LFP 振動の周波数と神経活動の伝搬速度の増加が忌避性の匂い刺激と条件づけされた匂い刺激によって生じていることから、そのような神経活動の変化がナメクジの忌避行動に関係していることが示唆された。

第4章では、第3章に述べられた神経活動の変化に対してNOが関与しているかを調べた。結果として、忌避性の匂い刺激（0.1%ヘキサノール）によるLFP振動の周波数の増加と神経活動の伝搬速度の増加は、NO合成酵素阻害剤（L-NAME）を用いてNO合成を阻害することで見られなくなった。このことから、忌避性の匂い刺激によって生じる神経活動の変化にNOが関係していることが明らかになり、ナメクジが匂いを識別する際にNOが関係していることが示唆された。

第5章では、第4章の結果を踏まえ、NOイメージングを用いて前脳葉におけるNOの時空間動態を調べた。結果として、前脳葉では常にNOが一定の速度で合成されており、忌避性の匂い刺激（0.1%ヘキサノール）によってその合成速度が増加するということが明らかになった。また、その合成速度の増加を、前脳葉を構成する3層（IM (internal mass) 層、TM (terminal mass) 層、CM (cell mass) 層）で比較したところ、TM層・CM層に比べてIM層で顕著であることを明らかにした。この結果は、IM層においてNO合成酵素が最も多く存在しているという先行研究の結果とも一致していた。

第6章では、本研究が総括されている。忌避性の匂い刺激によって前脳葉におけるLFP振動の周波数と神経活動の伝搬速度が増加することが明らかになった。このような神経活動の変化は、条件付けされた本来は誘因性の匂い刺激に対しても見られた。忌避性の匂い刺激による前脳葉のLFP振動の周波数と神経活動の伝搬速度の増加は、前脳葉、その中でも特にIM層におけるNOの合成速度の増加によって引き起こされる現象であることが示唆された。以上のことから、前脳葉におけるこのような一連の神経活動の変化がナメクジの忌避行動と関係していることが示唆された。最後に、その関係について考察がなされ、モデルが提案されている。

以上のように、本論文では、電気生理測定及び蛍光イメージング測定を用いて、チャコウラナメクジの嗅覚中枢神経系である前脳葉における神経活動とNOの時空間動態が詳細に調べられており、匂い刺激に対する神経活動の変化と行動との関係が明らかにされている。特に、蛍光イメージング測定は従来の研究ではあまり用いられなかった最先端の手法であり、自ら確立したその実験系でナメクジの匂い識別機構に関する新しい知見を得たことは高く評価できる。本研究によって、この分野の研究が大きく発展することが期待される。

よって本論文は、博士（理学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

平成 31 年 2 月 6 日