

令和 4 年 5 月 16 日現在

機関番号：14101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16283

研究課題名（和文）気流感覚刺激から複数情報の読み出しを可能にする昆虫神経システムの予測と実装解明

研究課題名（英文）Elucidation of prediction and implementation in an insect neural system that allows multiple information to be read out from airflow stimuli

研究代表者

設楽 久志（Shidara, Hisashi）

三重大学・医学系研究科・助教

研究者番号：00812736

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：動物は生存のために、一つの感覚刺激から方向やその刺激強度など様々な情報を個別に抽出し行動決定を行う必要がある。同定された神経細胞群によって気流刺激情報が脳へ搬送され、刺激パラメータに対応した応答を示すコオロギ気流感覚系をモデルに、気流刺激の方向と速度をコオロギがどのように外界から読み出し行動へ移すのか調べた。コオロギは異なる細胞群でそれぞれの情報を抽出する神経システムを有することが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

神経活動に外界の情報がどのように表現されているのか調べた研究は多くある。一方で、その神経活動と行動の関係を対応付けることは個体サイズが大きい場合難しい。本研究では、複数の神経細胞によって気流刺激の速度と方向の情報が読み出される仕組みを、行動出力の結果とあわせて明らかにできた。本研究は、動物が外界を理解しそれに応じて行動を行う一連の流れの理解に寄与することができる。

研究成果の概要（英文）：Animals have to extract a variety of information from stimuli, including the direction and intensity for their survival. Here, we focused on the wind-sensitive system of the cricket to understand how animals detect each parameter of a stimulus and show their response. In this cricket's system, the air-flow information was delivered by some identified interneurons, and the response depends on the parameters of wind stimuli. Our results of behavioral experiment, electrophysiological data, and observation of anatomical features showed that distinctive groups of giant interneurons detected the direction and intensity of wind stimuli.

研究分野：神経科学

キーワード：神経回路 デコーディング 気流刺激 電気生理 逃避行動

1. 研究開始当初の背景

外敵を避け生存確率を上げるため、動物は感覚刺激を神経活動として正確に読み出し行動を出力しなければいけない。感覚刺激の中でも方向性を持った視覚刺激や気流刺激などは、その方向や速度など複数の情報を含む刺激である。そのため同一の神経細胞で方向と速度の情報が表現されるが、混在するそれぞれの情報をどの様な神経システムで正確に読み出しているかを明らかにすることは、神経科学分野において大きな課題である。

申請者はこれまで、哺乳類の視覚系と相同であり、よりシンプルなコオロギの気流感覚系を用いて感覚刺激情報の読み出しシステムを明らかにしてきた (Sato et al., 2017)。コオロギは尾葉の機械感覚毛で気流刺激を検出し、尾部内部の神経節にある巨大介在ニューロン (GIs) で方向検出を行う。GIs は同定細胞であり、個体によらず同じ方向選択性や解剖学的特徴を持っているため、どの細胞がどの様な情報を脳へ搬送するのか対応付けを行うことができる点で有利である。また、気流刺激を受けたコオロギの逃避行動はその刺激方向や速度に依存する。したがって、コオロギは単一神経細胞、神経回路、行動の関係を明らかにする上で有用な系といえる。

一次視覚野の研究では、刺激強度によってチューニングカーブが乗算的・加算的な変化を示し、この違いによって刺激の方向と強度を上手く読み出しているのではないかと推測されている (図1)。しかし、こうした例は神経細胞の応答から推測されているに過ぎず、実際にチューニングカーブの変化が情報を読み出しや行動出力へどれだけ影響を与えているかはわからない。そこで、同定された少数の神経細胞で方向情報を読み出し、神経細胞と行動の直接的な関係を明らかにできるコオロギを用いて、情報の読み出しシステムの推論から実装解明までを行おうと考えた。

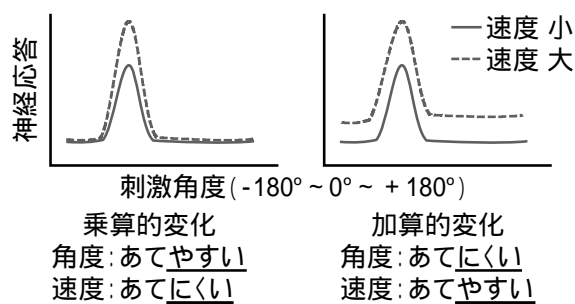


図1 チューニングカーブ

2. 研究の目的

本研究は、GIs の応答から気流刺激の方向と速度を正確に読み出す神経システムを予測する。さらに、行動実験の結果と組み合わせることにより、予測されるシステムが神経系として実際に実装されているか検証することを目的とする。そのために、具体的に以下の点を明らかにしようとした。

- (1) 5つの速度の気流刺激を8方向から与えた時のコオロギの逃避行動を調べ、コオロギが気流刺激の速度と方向をそれぞれ読み出していることを行動出力から明らかにする。
- (2) GIs の中でも気流応答性の6つのGIsを対象に同様の刺激を与えた時のチューニングカーブの変化を調べる (図2)。
- (3) 機械学習を用いたデコーディング解析により、どの様な特徴を持ったGIsが正確に情報を読み出すために必要であるのか推測し、情報を読み出すための神経システムを予測する。
- (4) GIs全体の解剖学的特徴を明らかにし、(1)~(3)の結果と照らし合わせることで、実装される神経システムの全体像を理解する。

3. 研究の方法

コオロギが気流刺激の5つの速度と8つの方向をそれぞれ正確に読み出し行動出力へ反映しているかどうか、球体 treadmill 装置を用いた行動実験を行い調べた。また、行動実験と同様の刺激装置でコオロギに気流刺激を与え、電気生理学的手法によりGIsの神経活動を直接記録した。得られたGIsの応答からチューニングカーブを作成し、GIsが持つ方向選択性とチューニングカーブの速度依存性について調べ

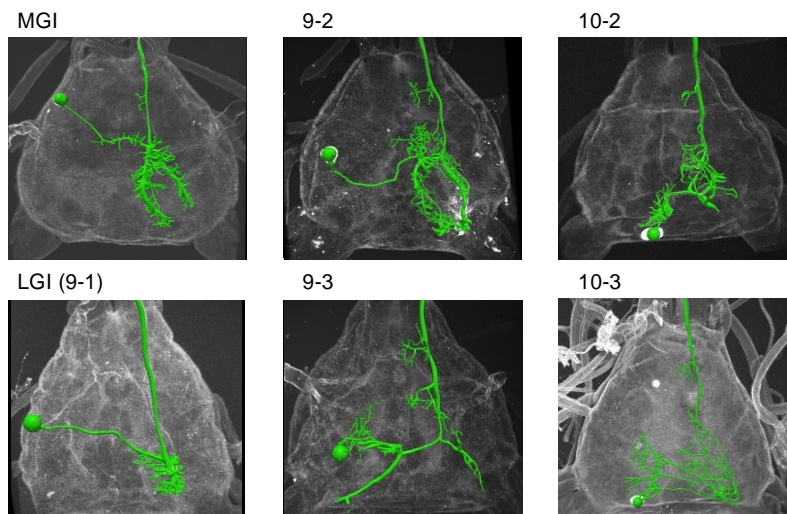


図2 気流応答性を持つ6つのGIs (Yamao et al., 2022より改変)

た。さらに、このデータを元にデコーディング解析を行い、どの GIs 群が速度と方向の読み出しに必要であるかを調べた。また、電気生理学的手法及び、インジェクション法を利用して、GIs 全体を蛍光色素で染色し、各 GIs が脳や神経節のどの部分へ軸索を投射しているのか調べた。

4. 研究成果

(1) 異なる気流刺激速度と方向を与えた時のコオロギ逃避行動

コオロギが気流刺激の速度と方向をそれぞれ読み出して行動出力に反映させているか明らかにするため、各コオロギに5つの速度と8つの方向の計40回の異なる刺激を与えた時の行動を調べた。行動の計測は球体トレッドミルシステムを利用した。背中を固定したコオロギは自由に球体トレッドミルの上を歩くことができる。コオロギが1秒間歩行を停止したタイミングで200msの気流刺激を与えた。まず、歩行速度を基準にコオロギが気流刺激に対して逃避行動を行ったかどうかを決定した。刺激に対してコオロギが逃避行動を示す割合を反応確率と定義し、刺激速度との関係を調べたところ、刺激強度の大きさに依存してシグモイドカーブ状に反応確率が上昇することがわかった。つまり、刺激速度に依存してコオロギは逃避行動を行うかどうかを決めており、速度情報を読み出していることがこの結果からわかった。

コオロギの気流逃避行動は一過的な速度変化が見られるが、先行研究にならぬ(Oe and Ogawa, 2013)これを一つの応答としてその後の解析をおこなった。逃避行動を示したコオロギについては、刺激から行動を開始するまでの反応潜時、移動距離、移動速度、移動方向といった行動パラメータを算出した。反応潜時は気流刺激に対して依存する結果が得られたが、移動距離と移動速度については刺激強度に対する依存性は見られなかった。また、移動方向については先行研究で報告されている通り、気流刺激から反対方向へコオロギが逃避することがわかった。この刺激方向から逆の方向へ逃避するという性質は刺激速度に依存せず、コオロギはどの刺激速度に対しても正確に逃避を行った。つまり、刺激速度とは関係なくコオロギは気流刺激の方向を正確に読み出すことができることを示している。

以上の結果から、行動レベルでコオロギは気流刺激速度と方向を正確に読み出し行動出力を行っているということがわかった。

(2) 気流刺激に対する巨大介在ニューロン (GIs) の神経応答

気流刺激に対して応答性を持つ6つのGIsに注目し、気流刺激を与えた際の各GIsの応答性を電気生理学的手法によって調べた。事前に腹側縦連合に色素を注入することで複数のGIsを可視化し、目的のGIsへガラス電極を刺入し神経活動を計測した。行動実験と同様の刺激装置を使い、同条件でGIsがどのような応答を示すのか解析した。刺激角度に対して刺激を与えた際の神経発火の関係を、チューニングカーブを作成し調べたところ、特定のGIsでは方向選択性が高く、刺激速度が大きくなってその方向選択性が変化しないという結果が得られた。一方で、方向選択性は低いものの、刺激速度の大きさに依存して神経発火数が上昇するGIsも存在した。この様に、各GIsで刺激速度や方向に対する応答発火性がそれぞれ異なるということがわかった。

(3) デコーディング解析による気流刺激情報読み出しシステムの解明

測定されたGIsの応答を元に、どのGIsの組合せによって刺激速度や方向が読み出されているのかということ調べた。まず、各GIsにおけるある速度と方向の刺激に対する応答の平均値を調べ、GIsの神経応答がポアソン分布にフィッティングできることを確認した。そこで、得られた各GIsの神経活動のデータセットを用いてトレーニングデータを作成し、ポアソン分布を利用した最尤推定法によるデコーダを作成した。そして、テストデータを用いて速度や方向を正確に読み出すことのできる神経細胞群を調べ、速度と方向の情報をどの神経細胞群が読み出しているのか調べた。その結果、方向については特定の神経細胞が存在すれば情報を読み出すことが可能であることがわかった。一方、速度については方向に比べてGIs全体で情報を脳へ搬送している可能性が示唆された。

(4) GIsの解剖学的特徴の記述

最後に、こうしたGIsの神経機能の役割が解剖学的特徴と結びつくのかどうかについて各GIsを染色することによって調べた(図3)。GIsの染色は電気生理学的手法もしくは、腹側縦連合にデキストラクタグ付きの蛍光色素を注入することで行った。幼虫のコオロギでは最終腹部神経節から脳までGIsの投射があることが知られていたが(Hirota et al., 1993)、成虫のコオロギでも注目した6つのGIsで脳まで投射があることが確認できた。GIsの軸索が腹側縦連合の腹側もしくは背側のどちらを通るのかということに依存して、GIsは腹側GIsと背側GIsにそれぞれグループ分けされる。今回注目した6つのGIsについてはMGIとLGIは腹側GIsに分類され、GI 9-2, 9-3, 10-2, 10-3が背側GIに分類される。脳内の軸索投射部位を調べたところMGI, LGI, GI 10-2, 10-3は近接した部位に投射を行っていたのに対し、GI 9-2, 9-3は他の4つのGIsと比較すると脳の後方に位置していることがわかった。さらにGI 9-2と9-3については、胸部で外側に向かった軸索投射を持っていることもわかり、背腹軸での分類だけではなく背側GIsの中でもサブグループにわかれるということがわかった。GI 9-2, 9-3とGI 10-2, 10-3の違いはこうした解剖学的特徴だけではなく、神経応答にも見られた。この差は神経機能と解剖学

的特徴が密接に関わっている可能性を示唆している。

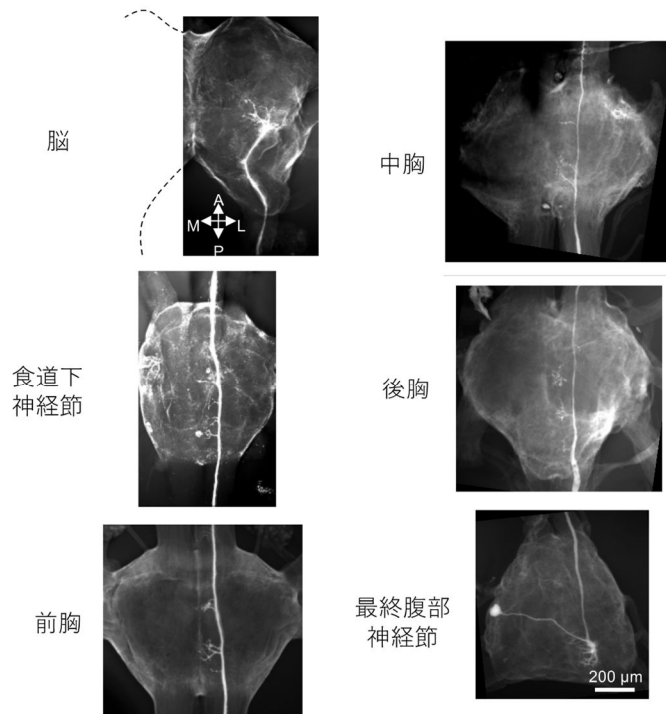


図3 LGIの蛍光染色画像 (Yamao et al., 2022より改変)

< 引用文献 >

Sato N, Shidara H, Ogawa H. 2017. Post-molting development of wind-elicited escape behavior in the cricket. *J Insect Physiol* 103:36-46.

Oe M, Ogawa H. 2013. Neural basis of stimulus-angle-dependent motor control of wind-elicited walking behavior in the cricket *Gryllus bimaculatus*. *PLoS One* 8:e80184.

Yamao H, Shidara H, Ogawa H. 2022. Central projections of cercal giant interneurons in the adult field cricket, *Gryllus bimaculatus*. *J Comp Neurol* 1-13.

Hirota K, Sonoda Y, Baba Y, Yamaguchi T. 1993. Distinction in morphology and behavioral role between dorsal and ventral groups of cricket giant interneurons. *Zoolog Sci* 10:705-709.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yamao Hiroki, Shidara Hisashi, Ogawa Hiroto	4. 巻 -
2. 論文標題 Central projections of cercal giant interneurons in the adult field cricket, <i>Gryllus bimaculatus</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Comparative Neurology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cne.25336	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sato Nodoka, Shidara Hisashi, Ogawa Hiroto	4. 巻 8
2. 論文標題 Action selection based on multiple-stimulus aspects in wind-elicited escape behavior of crickets	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Heliyon	6. 最初と最後の頁 e08800 ~ e08800
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.heliyon.2022.e08800	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 小川宏人、田中 寿希、染谷真琴、設楽久志
2. 発表標題 昆虫の機械感覚系における異なる刺激情報の符号化をになう細胞集団
3. 学会等名 日本神経科学学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroto Ogawa, Kazuki Tanaka, Makoto Someya, Hisashi Shidara
2. 発表標題 Different cell groups encode stimulus intensity and direction in insect mechanosensory system
3. 学会等名 Society for Neuroscience（国際学会）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------