

実験動物としてみた節足動物 — 特に神経行動学の立場から —

山口 恒 夫

岡山大学理学部生物学教室

1. はじめに

節足動物は甲殻類，昆虫類，蛛虫類，多足類などを含む動物門である。この門に属する動物は動物界中で最も属・種が多く，これまでに記載された現存動物種の約80%（100万種）を占めている。地理的分布も広く，棲息場所も海・淡水から陸地に及んでいるので，形態も棲息環境に対応して多様化し，機能や行動においても多彩なものがみられる。

本稿では，このような節足動物について，実験動物としてみた場合の特徴を，特に神経行動学の分野から述べてみたい。

2. アウグスト・クログの原則

実験の成否は実験技術の優劣はもちろんのこと，実験の目的に適合した実験動物の選択も極めて重要であることは，歴史の示すところであり，また，多くの研究者の経験するところでもある。

このことに関連して，A. Krogh (1874—1949；デンマークの動物生理学者で，毛細血管の運動調節に関する研究で1920年度のノーベル生理学賞を授賞)は1929年に発表した論文¹⁾で，恩師の C. Bohr (1855—1911) が述べたジョーク「ある種のカメは，呼吸生理学の研究のために，創造された動物である」に基づいて，次のことを記述している。

『I have no doubt that there is quite a number of animals which are similarly "created" for special physiological purpose, but I am afraid that most of them are unknown to the men for whom they were "created", and we must apply

to the zoologists to find them and lay our hands on them.』

H. A. Krebs (1900—1981；ドイツ生まれの生化学者で，1953年に細胞の物質代謝の研究でノーベル生理学賞を授賞)は，1975年に「The August Krogh Principle: "For many problems there is an animal on which it can be most conveniently studied"」と題する論文(1975)²⁾を発表し，Kroghの考え方をアウグスト・クログの原則(The August Krogh Principle)と表現するとともに，多くの実例を挙げて，その原則の重要性を主張している。Krebsの挙げた実験動物には，(1)ミトコンドリアが他の組織のものに比べてタフで，実験操作によっても容易に壊れない胸筋をもつハト（この実験材料でTCAサイクルを発見；[Krebs and Johnson, 1937]），(2)大型な非同期筋(asynchronous muscle)をもつ半翅目昆虫タガメ（自己振動型の収縮を示す筋肉の好実験材料；[Pringle, 1961]），(3)平行して縦走する繊維からなり，容易に分離できる平滑筋をもつモルモット（平滑筋研究の好材料；[Bülbring, 1954]），(4)直径が500 μm を超える巨大ニューロンがあるヤリイカ（活動電位の誘導とそのイオン機構の解析に成功；[Hodgkin, 1963]）などがある。

一方，アメリカの動物生理学の泰斗 C. L. Prosser (1973)は，無脊椎動物を実験材料にした研究で，これまでに多くの生命現象が解明されたことを指摘し—例えば，ザリガニの体節間伸展受容器で明らかにされた情報変換様式や感度の遠心性制御(Kuffler and Eyzaguirre, 1955)，カブトガニの視細胞で発見された側方抑制(lateral inhibition；Hartline, 1959)—，実験動物として無脊椎動物の

有用性を強調する論文³⁾を發表している。このような考え方は、Prosser 自身の記述はないが、アウグスト・クログの原則を肯定していることにはかならない。

3. 実験動物としての節足動物

表1は、G. Hoyle (1976)⁴⁾がオレゴン大学の大学院生などへの質問に寄せられた回答を基にして作ったもので、“動物のメリット表”とも呼ぶべきものである。すなわち、この表は、主要な門や綱に属する動物が、神経行動学的研究の実験動物として生得的に備えているメリット (experimental utility) を点数として表現している。

この表によれば、それぞれの動物は特有のメリットを備えているが、中でも大型の昆虫などの節足動物は、あらゆる面で神経行動学の研究に適合するメリットをもっている。このことは、表に直接示されていないが、節足動物の神経系には、(1)ニューロン数が少ないこと、(2)ニューロンが大型であること、(3)過酷な実験条件下で、ニューロンの正常な電気的活動を長時間にわたって誘導可能などのメリットがあることにも起因している。

事実、神経行動学的研究には、古くからバッタ、ゴキブリ、コオロギ、ハエなどの昆虫類やザリガ

ニやイセエビなどの甲殻類が多用されている。このことは、例えば、Hart (1987)⁵⁾が精力的にまとめあげた膨大なザリガニの文献目録<An interdisciplinary bibliography of freshwater crayfishes (Astacoidea and Parastacoidea) from Aristotle through 1985>によって、端的に示されよう。この文献目録には、Aristotle (384—322 B. C.) から1985年までの間に、ザリガニを用いて行われた28,249編の研究論文が収録されており、そのうち、神経・筋肉系に関する研究論文は8,889編、行動に関する研究論文は1,195編に達している。

4. どのような研究が可能か

著者たちの研究グループでは、長年にわたって、さまざまな節足動物を実験動物に用いて神経生物学的な研究を行ってきた。ここでは、最近の研究を簡単に紹介し、節足動物に対する理解に供したい。

1) アメリカザリガニの脳内ノンスパイキング 巨大ニューロンにおける刺激応答性の解析

アメリカザリガニ (*Procambarus clarkii*) は比較的簡単に入手できる上、前述のようなメリットも備えているので、優れた実験動物の一つといえる。著者たちは、この動物を用いて視覚系におけ

表1 動物のメリット調査

実験のユーティリティ	動物のグループ名													
	霊長類	他の哺乳類	鳥類	爬虫類	両生類	魚類	頭足類	大型昆虫	甲殻類	腹足類	小型昆虫類	環形動物	扁形動物	腔腸動物
人間に対する実用面での意義	5	4	3	2	2	2	1	3	2	1	2	2	2	
個々の中枢ニューロンの同定	1	2	1	1	2	2		4	2	4		3		
行動時における細胞内電極の使用	1	2	1	1	2	1		4	2	3		2		
単離神経系における細胞内電極の使用						1		3	2	4		3		
行動のレパートリーの豊富さ	5	3	4	2	1	2	2	4	1	1	4	1	1	2
可塑性または学習の能力	5	4	4	1	1	2	3	3	1	1	2	1	2	
ニューロンの化学的解析の可能性	2	3	2	3	3	1	1	2	2	3		1		
遺伝的操作の可能性		1	2	1	1	2		4		1	5		2	
発生学的研究の可能性		1	4		3	2		3		1				
動物入手と飼育の容易さ	1	2	4	4	4	4	1	5	3	3	5	3	4	2
末梢運動出力解析の容易さ	1	1	1	1	1	1		5	5			1		
感覚入力解析の容易さ	1	2	1	1	2	1		3	3	2		2		
メリット点数	22	25	27	17	22	21	8	43	23	24	18	19	11	4

るニューロン回路の構築と情報処理機構に関する研究(例えば, Wiersma and Yamaguchi, 1966; Yamaguchi et al., 1984) を行っているが, 最近, “視覚刺激や重力刺激に緩電位をもって応答する巨大ニューロン”(nonspiking giant interneuron; 以下, NGI と省略)を, 脳内で発見した (Okada and Yamaguchi, 1989⁶⁾; Yamaguchi and Okada, 1990⁷⁾。

これまでに, NGI として5種類のもの同定されているが, いずれも樹状突起が非常に大型(直径, 500 μm)で, しかも軸索がない特異な形態を示している。これらの NGI と3次視覚性介在ニューロン(sustaining fibers: 視神経束を走行し, 複眼の光照射でスパイク応答するニューロン)との細胞内二重染色や感覚刺激に対する応答の同時記録, また, 動眼ニューロン(左右への体のローリングに対して, 眼柄の補償運動を引き起こす2種類の運動ニューロン; eye-up and eye-down motoneurons)に対する NGI の細胞内通電効果から, 三種のニューロン間には, 図1に示されている結合の存在していることが明らかにされた。

すなわち, NGI と同側及び反対側の sustaining fibers との間には, それぞれ抑制性シナプス結合と興奮性シナプス結合があり, 同側及び反対側の複眼への光照射によって, NGI には過分極性緩電位と脱分極性緩電位が発生する。また, NGI と同側及び反対側の平衡胞介在ニューロン(未同定)との間には, それぞれ興奮性シナプス結合と抑制性結合が存在し, 同側及び反対側方向へのローリングによって, NGI には脱分極性緩電位と過分極性緩電位が発生する。さらに, NGI は同側の eye-down motoneuron 及び反対側の eye-up motoneuron と, それぞれ興奮性シナプス結合をしており, NGI の脱分極でこれらの動眼ニューロンには, スパイク発火頻度の増大が引き起こされる。

従って, NGI は視覚情報と体平衡情報を統合し, 体のローリング時に発現する眼柄の補償運動に必要な動眼出力を形成する機能をもっているものと結論することができよう。NGI を中心とするニューロン回路網は, 複数のモダリティの感覚情報の統合や, 体平衡の神経制御を解析するのに適した実験系であると考えられる。

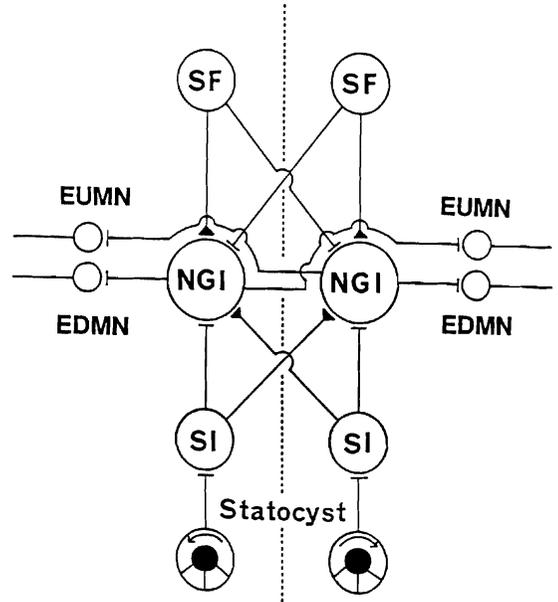


図1 ザリガニのノンスパイクング巨大ニューロンを中心とするニューロン結合

EDMN, EUMN; 動眼ニューロン (eye-down motoneuron と eye-up motoneuron); NGI, ノンスパイクング巨大ニューロン; SF, 3次視覚性介在ニューロン(sustaining fiber); SI, 未同定の平衡胞介在ニューロン; statocyst, 平衡胞。T字状及び黒三角状の結合は, それぞれ興奮性シナプスと抑制性シナプスを示す。

2) フタホシコオロギ飛翔筋の選択的退化

フタホシコオロギ (*Gryllus bimaculatus*) は室温が25~30度であれば, 1年を通じて繁殖を続け, いつでも実験として用いることが可能なので, 優れた実験動物の一つである。

このフタホシコオロギは, 1~8 齢の幼虫期を経て成虫になり, 飛翔行動と生殖行動を発現するようになる。最近, 著者等はこの昆虫で飛翔行動と神経・筋肉系の解析を行い, 1) 飛翔行動が可能であるのは成虫脱皮後わずか2, 3日間だけで, それ以後は専ら生殖行動のみを示すことと, 2) 雌雄ともに成虫脱皮後, 飛翔筋はいったん成長するものの, 成虫脱皮後3, 4日目に特定の飛翔筋が退化し始めることなどを見出した。

図2には, 胸部における飛翔筋の配置, 選択的退化の著しい間接飛翔筋 M 112 a の成虫脱皮後の湿重量変化, 成虫脱皮後19日目の雌個体における M 122 a を支配している運動ニューロンの終

末像, 及び, M 112 a の複屈折性が示されている。

現在, 進行中の研究により, 1) 筋肉が退化しても, それを支配している運動ニューロンの形態と電気的活動は正常であること, 2) M 112 a の場合には, 退化 (図 2 では, 複屈折性の消失) が腹側の筋繊維から始まること, 3) 筋肉の退化はアラタ体から分泌される JH ホルモンの増加によって発現すること, 4) 運動ニューロンの切断は筋肉の退化を促進すること, などが明らかにされつつある。従って, フタホシコオロギの飛翔筋は, いわゆる“筋萎縮”に関する基礎的な問題を解析

するため好実験系になるものと考えられる。

5. ま と め

アウグスト・クローグの原則が示すように, 研究の成否は実験動物の善し悪しに負うところが多い。特に, 神経行動学の研究分野においては, 多くの節足動物がアウグスト・クローグの原則に当てはまる好実験動物として多用されている。このことは, A. Krogh¹⁾自身が次のように述べていることでもお分かり頂けるであろう。

『you will find in the lower animals mecha-

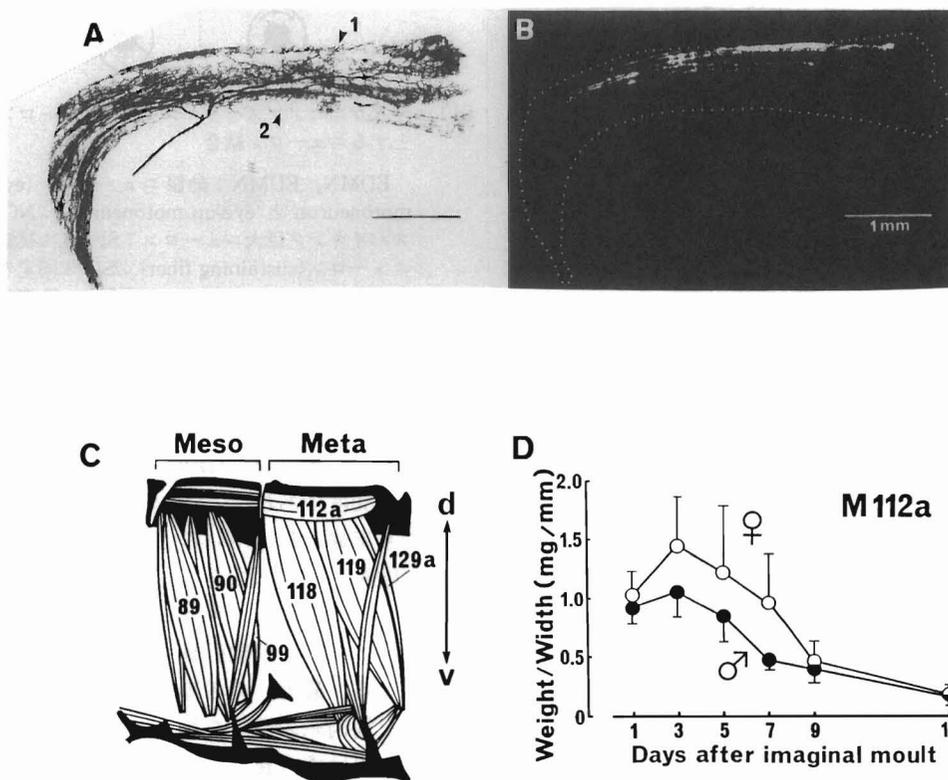


図 2 コオロギの飛翔筋 (M 112 a) の退化

- (A) 運動ニューロン (成虫脱皮後19日目の雌個体) への Ni^{2+} のバックフィルで染色された M 112 a 上の終末像。
 (B) A と同じ標本を偏光顕微鏡像。筋肉の背側の筋繊維にのみ複屈折性が認められることに注意。点線は筋肉全体の輪郭を示す。A, B ともに右下には, 複屈折性を示すポリスチレンの毛細管 (長さ 1 mm) をスケールとして置いてある。
 (C) 胸部の筋肉の配置を示す模式図。数字は筋肉番号 (Furukawa, Tomioka and Yamaguchi [1983] による)。d は背側, v は腹側。
 (D) 筋肉 M 112 a の湿重量変化。縦軸は湿重量を胸幅で割った値, 横軸は成虫脱皮後の日数。

nisms and adaptations of exquisite beauty and the most surprising character, and I think nothing can be more fascinating than the senses and instincts of insects as revealed by modern investigations」

では、どのようにして特定の研究目的に適合する実験動物を探したらよいのだろうか。この点に関して、H. A. Krebs (1875)²⁾は J. W. S. Pringle (1996—67)の言葉、“treasure house of nature”を引用して次のように述べている。

『zoological, rather than physiological and biochemical training, helps because a zoologist has been brought up in contact with the “treasure house of nature”』

どちらかという、生物科学の分野では、分子レベルからアプローチが主流となっている今日、Krebsのこのような考えは示唆に富むものと言えるのではないだろうか。

文 献

- 1) Krogh, A. : The Progress of physiology. J. Amer. Physiol. 90 : 243-251, 1929.
- 2) Krebs, H. A. : The August Krogh Principle : “For many problems there is an animal on which it can be most conveniently studied”. J. Exp. Zool. 194 : 221-226, 1975.
- 3) Prosser, C. L. : Animal models for bioedical research V-Invertebrates. Fed. Proc. 32 : 2177-2178, 1973.
- 4) Hoyle, G. : Approaches to understanding the neurophysiological bases of behavior. In “Simpler Networks and Behavior”, Fentress, J. C. ed., Sinauer Associates, Sunderland, pp. 21-38, 1976.
- 5) Hart, C. W. Jr. : An interdisciplinary bibliography of freshwater crayfishes (Astacoidea and Parastacoidea) from Aristotle through 1985. Smithsonian Contributions to Zoology, No. 455, Smithsonian Institution Press, Washington, D. C., 1987.
- 6) Okada, Y. and Yamaguchi, T. : Nonspiking giant interneurons in the crayfish brain : morphological and physiological characteristics of the neurons postsynaptic to visual interneurons. J. Comp. Physiol A 162 : 705-714, 1988.
- 7) Yamaguchi, T. and Okada, Y. : Giant brain neurons of the crayfish : their functional roles in the compensatory oculomotor systems. “Frontiers in Crustacean Neurobiology” (eds. by K. Wiese, W.-D. Krenz, J. Tautz, H. Reichert, and B. Mulloney), pp. 193-199, Birkhäuser Verlag, Basel, 1990.
- 8) Shiga, S., Kogawauchi, S., Yasuyama, K. and Yamaguchi, T. : Flight behaviour and selective degeneration of flight muscles in the adult cricket (*Gryllus bimaculatus*). (Submitted to the Journal of Experimental Biology)