

ザリガニ触角の感覚受容器の自発放電及び 機械刺激応答の解析

香田政彦*・古賀和利**・森近治彦***・三池秀敏**・蛭名良雄**

Spontaneous Discharge and Response to Mechanical Stimulus
Occurring in the Sensory Receptor in the Antenna of Crayfish

Masahiko KOHDA, Kazutoshi KOGA, Haruhiko MORICHKA,
Hidetoshi MIKE and Yoshio EBINA

Abstract

The responses of the sensory cell in the first antenna of crayfish show rapid adaptation and nearly irregular discharge at a glance in accordance with the application of the mechanical stimulus to the sensory hair. By presupposing that the irregular discharge includes some information, we carry out statistical analysis about it. The activity of the sample is examined from analyzing the average of the firing rate in spontaneous discharge. It is shown that the sample is kept in steady state for about two hours long at constant temperature (about 16°C) of liquid paraffin in which the sample is fixed. On the basis of mentioned above, the stimulus-response is studied. When the mechanical stimulus is applied to the sensory hair, the sensory cell responds mainly to the velocity.

1. はじめに

生体の感覚受容器において、外界の刺激はすべて神経繊維を伝播するパルス列に変換される。刺激・応答特性として受容器をながめると、伸張受容器¹⁾(stretch receptor)のように順応の長いものと、ザリガニの触角の機械受容器²⁾(mechanoreceptor)のように順応の短いものがある。前者の応答パルス列は、規則的で一定しており解析についての報告も数多くなされている。これに対し後者のそれは、不規則で一定していないため、秩父らの報告以外にほとんど文献がみあたらない。そこで本研究ではこのザリガニの触角の機械受容器に着目し、その応答パルス列を統計的立場から解析し、そこにみられる普遍的な性質を明らかにすることを目的とした。したがって解析にはデータを多数回(150~200)とり、その応答を統計的に処理した。こ

の場合、データを多数とるため長時間を要する。そのため実験中、生体系が十分安定状態にあることが、応答を解析する前提となる。われわれは、これを自発放電の頻度変化より調べた。自発放電は触角よりパルス列を導出した際、何ら刺激を加えなくても観測されるものである。刺激を加えると、このパルス列に重畳して応答パルス列があらわれる。したがって、自発放電の時間及び温度変化による頻度変化を調べることは、機械刺激応答を解析する際の基礎に十分なると思われる。本研究では、最初にこの自発放電の性質を調べ、次にこれに基づいて機械刺激を行ない、その応答を解析している。

2. 実験方法

2.1 実験材料及びパルス導出

本実験で用いたのはザリガニの第一触角内枝である。これは、ザリガニの第一触角を基部より切断し、次に外枝をその着生部より切断して原節と内枝のみとしたものである。この触角を Fig. 1 に示す装置に取り付

* 大学院電気工学専攻

** 電気工学科

*** 大学院電気工学専攻(現在 NHK)

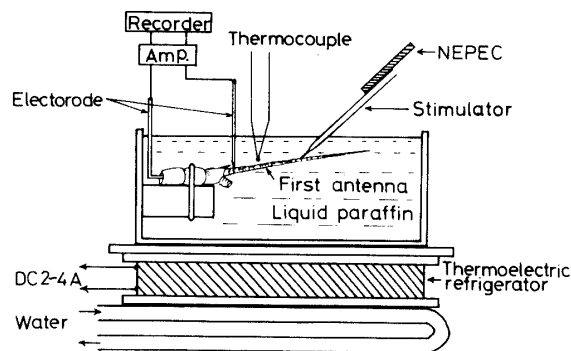


Fig. 1 Experimental apparatus

けパルス列を導出する。不感電極として表面に Ag-Cl 層を形成させた銀線 (径 0.2mm) を原節の中程まで刺し込む。次にパルス導出用電極として、表面をペーキングエナメルで絶縁した先端径数十 μm の針電極を 14~80 倍の実体顕微鏡で観察しながら、触角のクチクラ層のうちで比較的軟らかい節の部分に深さ 0.2~0.5mm 刺し込む。このとき Fig. 2 に示すように不規則なパルス列が観測される。このパルス列は刺激のないときに導出されるので、自発放電と言われている。この導出されたパルス列は高さが 0.5~1.0mV であるから増幅器で数百 mV 位にし、磁気テープに記録する。

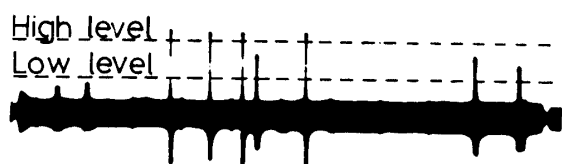


Fig. 2 Example of a train of impulses in spontaneous discharge. There are two levels in a train of impulses. These are grouped into two classes.

なお触角を浸した容器は流動パラフィンで満たされている。流動パラフィンを用いた結果として、

- 1) 水中と同様な状態であるため、触角の感覚毛が自然な方向を向く。
 - 2) 絶縁物であるため、電極によりパルス列を導出するのが容易である。
 - 3) 触角全体を覆っているため、触角の乾燥を防ぐことができ実験を 2~3 時間にわたって行なうことができる。
 - 4) 刺激用ガラス管の固有振動のダンパーとなる。
- 等、多くの長所を持つことになる。

流動パラフィンの温度制御は電子冷却素子 (thermoelectric refrigerator) を用い、これに流す電流の大きさと放熱板に流す水量によって行なう。温度検出は試料の近傍に置かれた銅コンスタンタン熱電対 (ther-

mocouple) によって測定し、ペンレコーダに記録する。この装置による温度変化範囲は約 7~30°C である。

2.2 パルス列の記録

2.2.1 自発放電パルス列の記録

自発放電のパルス頻度の時間変化及び温度依存性を調べるため、次の 2 つの場合について実験を行なった。流動パラフィンの温度を一定値に抑える場合 (14~18°C 内の一定値) と、その値から 25°C 付近まで緩やかに上昇させる場合とにする。これは予備実験において、14°C から温度を下降させた際、11°C 付近でパルスが消失したため実験はこれ以上の温度で行なった。

2.2.2 機械刺激応答パルス列の記録

本実験の機械刺激応答は触角の一本の感覚毛からの応答である。そこで 2.1 のようにして導出されたパルス列に対応する感覚毛を探し、刺激用ガラス管 (先端径 20~30 μm) をマイクロマニピュレータを使ってその感覚毛に被せる。この刺激用ガラス管を Bimorph 型の電歪素子 (NEPEC) で動かし機械刺激を加える。刺激はランプ波形である。刺激は一定強度で 5 秒毎に 150~200 回繰り返す。次に刺激強度を 3~5 段階に変えて同様に行なう。このようにして得られた応答パルス列は磁気テープに記録される。実験中の流動パラフィンの温度は、14~18°C 内の一定値に保つ。

3. 実験結果

3.1 自発放電パルス列

磁気テープに記録されたパルス列の解析には、Fig. 3 に示す装置を用いる。これはパルス列の時間的な頻度変化を調べるもので一種の D-A 変換装置である。磁気テープ (MT) より再生されるパルス列には Fig. 2 に示したように高さの違う 2 種類のレベルがある (以下高レベルのみのパルス列を H パルス列、低レベルのパルス列も含んだパルス列を L パルス列と呼ぶ)。これをシュミットトリガ回路 (ST) によって、H パルス列あるいは L パルス列に選択する。次に周波数カ

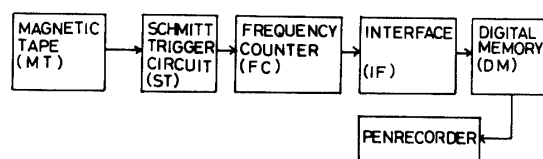
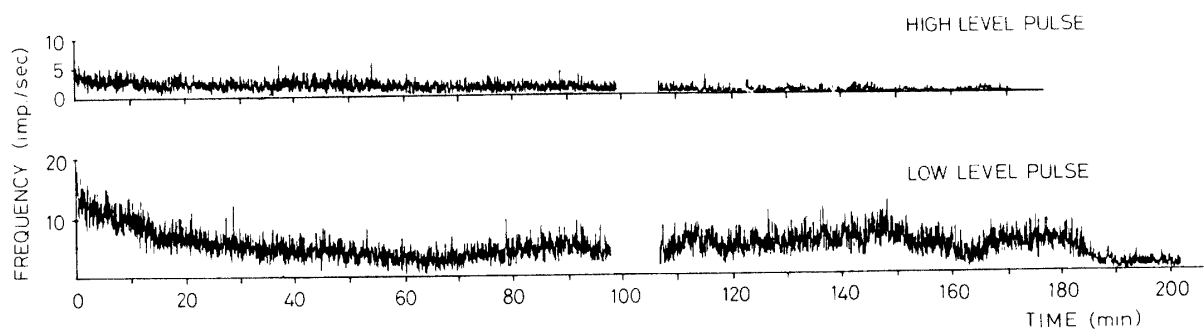
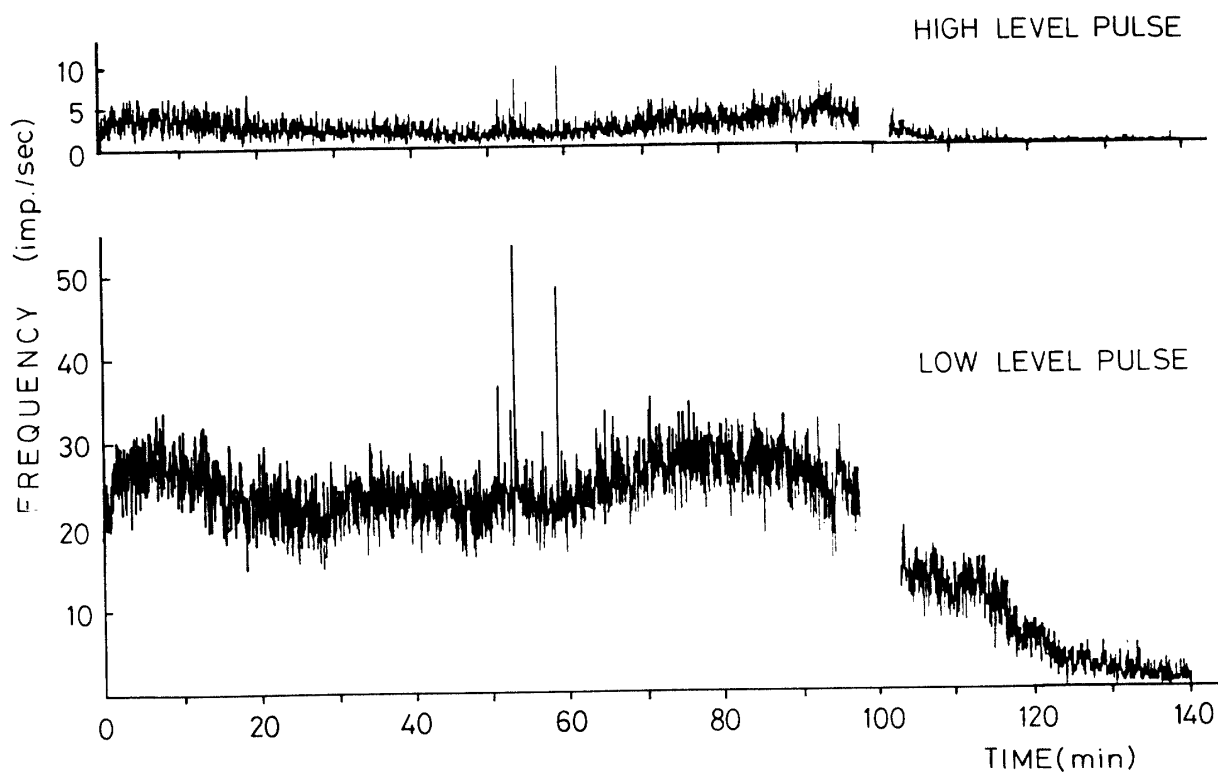
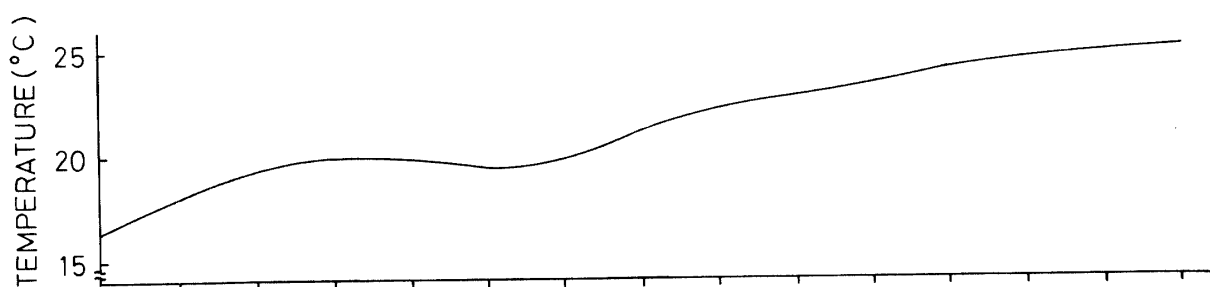


Fig. 3 Apparatus-blockdiagram for analysis of spontaneous discharge.



(a)



(b)

Fig. 4 Time dependence of impulse frequency in spontaneous discharge. The temperature of (a) is constant, 16.5°C, and that of (b) is changed as shown top figure.

ウンタ (FC) によって1秒ないし10秒のサンプル時間内にあったパルス数をカウントし、デジタルメモリ (DM) にインターフェース (IF) を通して入力し記憶させる。ここで使用したデジタルメモリの記憶容量は8 bit 1024語である。記憶されたパルス頻度はペンレコーダに出力させる。その代表的な例を Fig. 4 に示す。

Fig. 4 のデータは、同じザリガニの1対の触角に対し時間変化及び温度変化によるパルス頻度の変化を記録したものである。即ち、Fig. 4 a は温度一定(16.5°C)、Fig. 4 b は温度を図中に示すように変化させたものである。図より次のような特徴があることがわかる。

- 1) Fig. 4 a, b とともに触角切断直後のパルス頻度は高く、30分程度で定常状態になる。
- 2) 温度変化に対して明白にパルス頻度の変化があり、Lパルス頻度に顕著にあらわれる。
- 3) 温度に追従する範囲は、温度で22°C付近、時間で切断後80~100分程度までである。

- 4) Fig. 4 a, b を比較した場合、Fig. 4 a、即ち温度一定としたほうがパルス頻度に乱調がみられない。

以上の事より、初期においてパルス頻度が高いのは触角を切断したり、針電極を刺したりする影響と考えられ、30分程度でこれがなくなるものと思われる。また温度一定の結果より (Fig. 4 a)、触角の活動状態を保てるのは最大限で約3時間である。したがって流動パラフィン中に触角を浸した状態で定常な自発放電パルス頻度が得られるのは、触角切断後30分より約2時間である。

次に温度変化に対するパルス頻度をみてみよう。時間経過によってパルス頻度は減少するが (Fig. 4 a より)、これ以上に大きな変化がみられる。このことから、この系は温度に追従することが明らかである。また、変化の様子は他の実験結果より個体差がある。しかし、一般的な振舞として、22°Cを越すとパルス頻度は乱れ始め、その後急速に低下することがわかる。したがって、定常的なパルス頻度を得るには、温度を14~18°C内の一定値に保てばよい。

3.2 機械刺激応答パルス列

3.2.1 解析法

機械刺激応答パルス列のデータは一つの刺激強度で150~200個得られるが、これから平均的応答様式や応答の統計的性質を探るために電子計算機によってデータの処理を行なう。そのため計算機に入力でき、また処理に好都合な形のデータに変換するため Fig. 5 の処理装置を用いる。磁気テープ (MT) より再生される

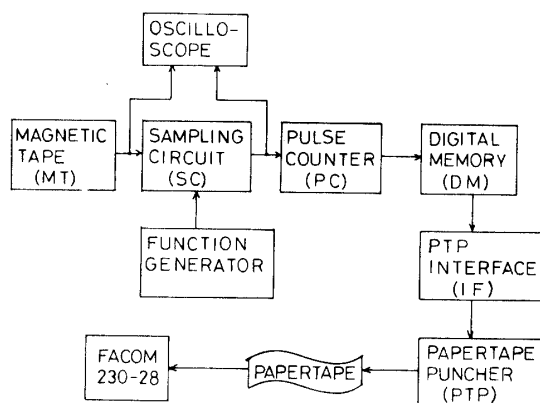


Fig. 5 Apparatus-blockdiagram for analysis of stimulus response.

パルス列はサンプル回路 (SC) によって刺激後 500~1000msec の応答パルス列を選択し、パルスカウンタ (PC) によってパルス間隔を量子化 (1 unit time=0.2, 0.5, 1.0msec) したデータに変換し一旦デジタルメモリ (DM) に記憶させる。その後 PTP インターフェース (IF) によって読み出され、テープパンチャー (PTP) により逐次紙テープ上に打ち出させる。これを計算機に入力し処理を行なう。

3.2.2 刺激後のパルス頻度変化

刺激後の時間を 5 msec 毎の小区間に分け、その各々に入るパルス数を加算して刺激後のパルス頻度変化、Fig. 6 が得られる。これは3段階の刺激強度と、刺激の全く加わっていない場合を強度順に示している。a の場合、刺激開始直後に高い応答があらわれ、一旦減少して再び増加する傾向がある。刺激が弱くなると (b~c)、初期の高い応答がなくなり、刺激の間ほぼ定常な応答を示している。刺激波形には、ランプ波形を用いているが、これを感覚毛が動かされる速度としてみた場合、刺激の間速度は一定であり、また加速度としてみた場合、ランプ波形の最初と最後に加速度が大となる。これにより、実験結果をみると、刺激している間ほぼ定常な応答を示していることから、実験に用いた感覚毛は一応速度に反応としていていると考えられる。しかし、刺激強度が大きい場合、刺激直後に高い応答があらわれる。これは加速度が大のときの反応であるから、加速度に対する反応と考えられる。

秩父らは、ザリガニの触角の感覚毛について、速度加速度、変位に反応するものがあると報告している²⁾がこの実験より、いずれかひとつに反応する感覚毛をはっきり区別することはできない。逆に言えば、1本の感覚毛には、その3つの反応様式が混在していることを示唆している。

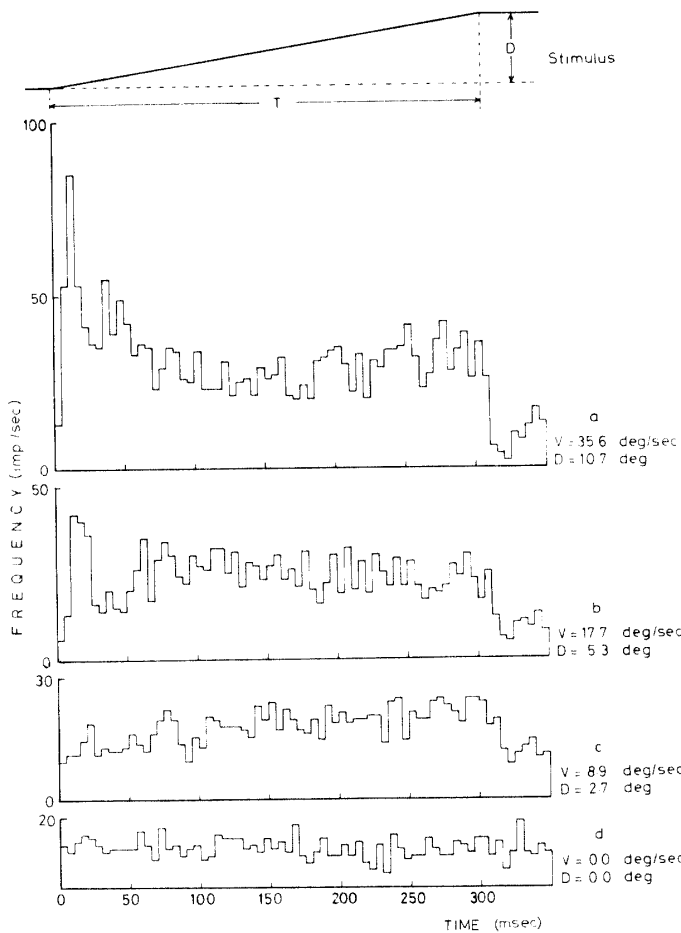


Fig. 6 Response of sensory nerve cell to mechanical stimulus.

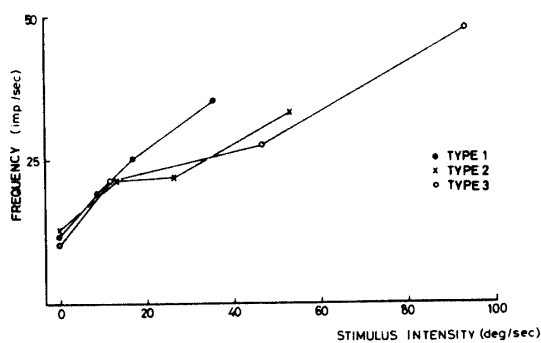


Fig. 7 Relation between stimulus intensity and impulse frequency. TYPE 1 is the curve obtained by plotting the average of impulse frequency during 0 to 200 msec against to the each size of stimulus intensity in Fig.6. The other, TYPE 2 and TYPE 3 are the ones calculated by the same manner as TYPE 1 about different samples.

3.2.3 刺激強度とパルス頻度の関係

刺激後200msecの間のパルス頻度の平均を刺激強度によって示したのが Fig. 7 である。図中、TYPE 1はFig. 6 a～d であり、TYPE 2, 3は他の触角について同様に行なったものである。これによると刺激強度の増大によって、TYPE 1～3ともにパルス頻度の増大がみられ、刺激強度とパルス頻度の関係は、Stevens のべき関数の法則³⁾で近似することができる。

3.3 自発放電パルス列の性質に基づく機械刺激応答パルス列の有効性

触角の感覚毛を機械刺激してデータをとるには、約120分～150分かかる。自発放電パルス頻度の時間変化より、切断後より定常になるまでの時間(約30分)は急激に変化している。実験では、30分位は刺激に反応する感覚毛を探し出すのに費やされるので、機械刺激応答の解析には無関係であり問題はない。

次に機械刺激応答をとっている間の定常性を調べてみる。これには、機械刺激応答パルス列を記録した磁気テープを

Fig. 3の装置を用いて刺激の有無を問わずパルス頻度の時間変化にしたものFig. 8を用いる。これを見てわかるように、刺激を加えている間ほぼパルス頻度は一定であることから、定常性が保たれていることがわかる。

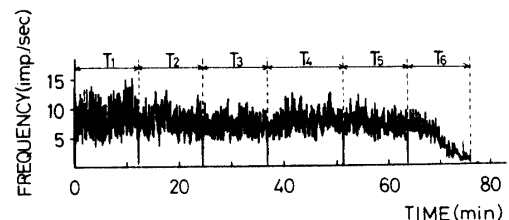


Fig. 8 Time dependence of impulse frequency observed during application of the mechanical stimulus to the sensory hair. T_1, T_2, T_3, T_4, T_5 : Periods of application of mechanical stimulus; in each time-interval T_i stimulus intensity is different from each other. T_6 : Period of spontaneous discharge

4. まとめ

本研究では、ザリガニの触角にある機械受容器の刺激応答を解析するため、まずパルス導出法及びデータ処理のシステムを完成した。この機械受容器の応答パルス列は、1でも述べたように、一定刺激に対し必ず同じ応答を示すものでなく、あくまで個々にバラツキをもつ統計量として解析を進めていかねばならない。したがって、一定強度の繰り返し刺激に対する多数の応答パルス列を処理する必要がある、応答パルス列を記録した磁気テープから必要なデータを自動的に取り出し、紙テープに出力するシステムを完成したことは本研究の一つの成果である。

次に切断した触角による機械刺激実験に際し、生体を十分安定状態に保つ条件を自発放電の性質から求め次のような結論となった。

- 1) 触角は流動パラフィン中でも約3時間活動状態を保つことができるが、定常的なパルス頻度が得られるのは、触角切断後約30分より2時間である。
- 2) 触角の安定な活動状態を保つ最適温度は14~18°Cである。

以上の条件のもとで、機械刺激応答を統計的に解析すると次の結論となった。

- 1) 感覚毛は速度に応答し、強い刺激が加わったときには加速度にも応答する。このことより、1本の感覚毛には、唯一の応答様式はなく、速度と加速度の

応答様式が混在していることがわかる。

- 2) 刺激強度とパルス頻度の関係は、Stevensのベキ関数の法則で近似できる。

ザリガニ触角の刺激応答として、以上の結論が得られたが、これを更に詳細に解析するため以下のことがあげられる。

- 1) 機械刺激の応答様式の違いを明確にするため、刺激波形として、ステップ波形、正弦波形を用いて解析を進める。
- 2) 自発放電のパルス列の統計的性質を、刺激応答の解析と同様に行ない、刺激情報を解析する際の基礎とする。

終わりに、本研究を行なうにあたって、御指導いただいた秩父志行教授（近畿大学・医）ならびに本学高浪五男教授に深く感謝する。

参 考 文 献

- 1) G.M. Shepherd and D. Ottoson; Symposia on Quantitative Biology, 30, 953, (1965)
- 2) 秩父志行, 若桑和夫: 文部省科学研究費補助金特定研究, 49, (1976)
- 3) 佐藤昌康, 感覚情報Ⅱ, 共立出版, (1968) p. 123
- 4) 森近治彦: 山口大学工学部修士論文, (1977)

(昭和52年4月15日受理)