

| | |
|---------------|---|
| 氏 名 (本 籍) | 梶 原 利 一 (東 京 都) |
| 学 位 の 種 類 | 博 士 (情 報 科 学) |
| 学 位 記 番 号 | 情 博 第 71 号 |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平 成 10 年 3 月 25 日 |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当 |
| 研 究 科 , 専 攻 | 東 北 大 学 大 学 院 情 報 科 学 研 究 科 (博 士 課 程) シ ス テ ム 情 報 科 学 専 攻 |
| 学 位 論 文 題 目 | 電 氣 的 ・ 光 学 的 測 定 法 に よ る 神 經 情 報 処 理 機 構 の 機 能 解 析 に 関 す る 研 究 |
| 論 文 審 査 委 員 | (主 査) 東 北 大 学 教 授 塚 原 保 夫 東 北 大 学 教 授 山 本 光 璋 東 北 大 学 教 授 三 浦 幸 雄 |

論 文 内 容 要 旨

第 1 章 序 論

神経細胞（ニューロン）は情報処理、記憶・学習の為に特異に分化した細胞である。ニューロン同士はシナプスによって結合し、複雑なネットワークを形成し、神経系全体を構成している。このような生物の神経系を自然が淘汰を通して作り上げた情報処理装置であるとみなし、その情報処理機構を解明する事が本研究の最終的な目標である。

神経情報処理機構の研究は、ニューロン説に基づき個々のニューロンの素子としての働きとニューロン間相互の結合様式を分析しこのレベルでの知識をもとにして、いくつかのニューロンの作る回路の働きを再現し総合してゆこうとする微視的な研究方法の積み重ねによって行われてきている。確かに微視的な研究方法は個々の細胞の時間的活動経過を追ったり、ニューロン結合の連鎖的な連なりを追う上では非常に有力であるが、ニューロン結合の空間的な配置を調べ出すには甚だ無力である。ところが最近になって、光学的測定法、機能的MRI等の手法による脳機能解析が盛んに行われ始めるようになり、巨視的な立場から神経回路の機能する様子を多点から同時に捉えることが可能とされてきた。本論文では、まず神経情報伝達の基本単位であるシナプス情報伝達に関する微視的研究を中枢神経系細胞のモデルとして捉えられる副腎髄質細胞に電気生理学的手法を適用する事により行った。更に極めて多数のシナプスにより形成される中枢神経回路の機能解明に関する巨視的研究をラット脳スライス標本への光学的測定法の適用により行ない、これらの微視的・巨視的レベルにおける研究結果を記憶・学習機構の視点で捉え考察した。

第 2 章 生体における情報処理機構研究の背景

神経情報処理機構研究の背景として、まず、ニューロン間の情報伝達において重要な機構である化学シナプス伝達機構に関する基本的性質についてこれまで報告されている実験事実に基づき概説した。次に、脳の記憶・学習機構の基礎的現象と考えられているシナプス可塑性について、その伝達効率の変化に着目し、著者が海馬CA1細胞において行なったシナプス伝達効率の長期増強（Long Term Potentiation : LTP）現象の実験結果を例にとり記した。更に、LTPと実際の記憶・学習との関連について現在まで報告されている知見に基づき記した後、シナプスレベルにおける現象から神経回路レベルの現象へ視点を移し、側頭葉内側部の記憶機構について概説した。

第3章 スライスパッチクランプ法による副腎髄質細胞の電気的特性とシナプス伝達の解析

本章では、電気生理学的手法であるホールセルパッチクランプ法をラット副腎スライス標本に適用し、交感神経-効果器間シナプス伝達機構を解析した結果について記した。副腎髄質細胞は構造的に中枢神経細胞と比較して非常に単純化された形態を有する。副腎髄質細胞は、末梢に位置するが、発生学的には神経冠に起源を持つとされ、中枢由来の細胞であると考えられている。実際、膜の電気的特性は中枢神経細胞と類似した性質を示し、形態学的な特徴から中枢神経系のモデル細胞として捉えられている。

研究は、まず副腎髄質細胞の膜の電気的特性を調べる事から開始した。単離培養系細胞では不可能であったシナプス部位の受容体についての解析を行なった結果、ニコチン性アセチルコリン (n-ACh) リセプターがシナプス後反応に参与している事が薬理的考察により判明した。更に、シナプス後電流 (EPSC) の減衰項を数理解した結果、EPSC の減衰項は二つの指数関数の和で表され、この事から、シナプス形成部位に存在する n-ACh リセプター (synaptic receptor) とシナプス部位外に存在する n-ACh リセプター (extra synaptic receptor) の2種類のリセプターがシナプス後反応に関与している事が推測された。

次に、パッチクランプ法により計測される EPSC を詳細に調べる事により、中枢神経系において困難を呈しているシナプス伝達機構の量子的放出過程に関する解析を行った。定電流刺激条件下においてパッチ電極から記録される EPSC の振幅値はおよそ 50~1200pA の範囲で2~3段階の離散的な値を示し、灌流液のカルシウム濃度低下によりその分布は更に細かく分かれ、平均振幅値は減少した。単一シナプス小胞から放出される伝達物質により惹起される EPSC の大きさ (Quantal Size) は、TTX を加えた還流液下において記録される自発性 EPSC (m-EPSC) の振幅分布を解析する事により調べた。m-EPSC の振幅値分布ヒストグラムは 25pA の整数倍の値にピークをもつ多峰性分布を示し、Quantal Size は 25pA と推定された。解剖学の結果から副腎髄質細胞へのシナプス入力の数是非常に少なくおよそ 1~4 個と推定され、この事と定電流刺激により惹起された EPSC の振幅値分布ヒストグラムの結果から、通常のカルシウム濃度条件下においては、一つのシナプス前終末では、脱分極により同時に複数のシナプス小胞に相当する伝達物質の放出が行われている事が示唆された。中枢神経細胞のモデル細胞と捉えられる副腎髄質細胞を用いる事によって、中枢シナプス伝達機構解析では極めて困難を呈していた伝達物質の量子的放出過程を神経・筋標本において報告された量子仮説に基づき詳細に解析する事が出来た点が本研究の成果の一つである。

シナプス伝達機構の重要な性質の一つであるシナプス可塑性は、脳の情報処理機構の中でも記憶学習機構に関与する性質として重要であると考えられている。シナプス可塑性をシナプス伝達効率の面から捉えると、その機構は、シナプス前終末からの伝達物質放出量の変化、あるいはシナプス後細胞の感受性の増大が考えられる。副腎髄質細胞において記録された EPSC 振幅値の変動は、シナプス前終末から放出される伝達物質質量の変動を意味しており、しばしば伝達物質の放出欠損が認められた。この非正常性はある種の入力により、伝達物質の放出が増大する可能性がある事を示している。シナプス前終末から放出される素量の単位数は細胞外カルシウム濃度の調節により変化する事が示されたことから、Zucker により提唱されたシナプス前終末のカルシウム残存説 (1989) に従うような刺激条件により、副腎シナプスにおいても極めて短時間の伝達効率の上昇は可能であると推測された。

第4章 光学的測定法による海馬傍回-海馬神経回路の機能的構造の研究

側頭葉内側部に位置する海馬は古くから記憶の座と想定され、シナプス可塑性に関する研究が盛んに行われてきた。Bliss と Lømo の *in vivo* の長期増強 (LTP) 実験 (1973) は、発達後の海馬シナプスが大きな可塑性を有する事を示した最初の報告である。LTP はシナプスレベルの現象であり進展してきている。しかしながら、脳における記憶・学習関連情報処理機構を解明する為には、LTP に見られるシナプスレベル、分子レベルにおける学習の基礎過程の研究のみならず、多数の神経細胞により構成される神経回路の特性を詳細に調べて行く事も必要であると考えられる。Squire ら (1991) によると海馬およびその周辺領野である嗅内皮質、嗅周辺皮質は、イメージとして意識にのぼる記憶、すなわち陳述的記憶に関与する領域として分類されている。本章では、側頭葉内側部に位置するこれらの神経構造体が、どのように相互作用して機能しているのかに着目し、神経回路の機能する様子を巨視的に捉えた結果について記した。神経回路の機能する様子を巨視的に捉える手段として光学的測定法を採用した。スライス標本を膜電位感受性色素により標本染色し、光学的測定法を適用する事によって、微小電極を用いた電気生理学的手法では困難であった多点

からの神経活動の同時記録が可能とされた。

実際には、脳の記憶機能の神経要素としての側頭葉内側部神経機構のうち特にその情報伝達に着目し、嗅内皮質－海馬における情報伝達機構、嗅内皮質－嗅周囲皮質における情報伝達機構についての研究を行った。その結果、嗅内皮質内に神経興奮が何度も循環する興奮性の閉回路（反響回路）が見出された。この反響回路は、情報の一時的保持、嗅内皮質へ入力する種々の感覚情報の時間的・空間的統合に機能し、更には海馬への入力線維の起始細胞である嗅内皮質Ⅱ／Ⅲ層神経細胞のシナプス可塑性と連携して、海馬情報入力の際の周波数依存的なゲーティングに関与している可能性が示唆された。

次に、嗅内皮質から嗅周囲皮質への神経興奮伝達パターンを解析した結果、両皮質境界深層部において神経興奮の持続・蓄積を可能とする事、この領域の神経興奮が一定閾値に達しないと嗅周囲皮質の神経興奮伝達が完成しない事が見出された。この領域は嗅内溝と直行方向に薄切して得られたスライス標本のほぼ全てにおいて認められた事から、嗅内溝に沿って広がりをもった領域であると判断され、組織化学的調査から、Brodmannの定義（1909）による嗅周囲皮質35野である事が判明した。つまり、嗅内皮質から嗅周囲皮質へ興奮が伝達される為には嗅周囲皮質35野における神経細胞群の十分な活性化が必要である事が判明した。更に、嗅内皮質から嗅周囲皮質への神経興奮伝達の際、灌流液のビククリン濃度を上昇させると、両皮質間における神経興奮伝達が容易となった事から、極めて強い抑制性神経回路が嗅周囲皮質35野に含まれ、それが興奮伝達を調節している可能性が考えられた。以上の結果から嗅周囲皮質35野には、嗅内皮質から嗅周囲皮質36野への情報伝達を抑制するゲートの機構が備わっており、この機構が海馬を介した大脳新皮質での情報の固定化、および海馬系を介した記憶情報の読み出し機構において、情報の選択を行なっている等の可能性が推測された。

第5章 結 論

本研究では、まず、中枢のモデルと捉えられる交換神経－副腎髄質細胞におけるシナプス伝達機構をスライスパッチクランプ法の適用により微視的に捉え明らかとし、伝達物質の量子的放出機構は、シナプス可塑性と密接に関与する性質であると結論した。

更に、記憶・学習関連領域である海馬－嗅内皮質－嗅周囲皮質間神経興奮伝達機構について、光学的測定法を用い、神経回路システムを巨視的に捉え解析する事により、それら関連領域が単に受動的素子としてではなく、それぞれの領域が神経興奮伝達を達成させる際、シナプス可塑性と連携して極めて能動的に機能する事を明らかとした。最近、ヒトの機能的MRI計測において記憶の固定、読み出しにおいて海馬や、嗅内皮質、嗅周囲皮質に賦活領域が見出されているが、その機構をより詳細に明らかにするためにも本研究で目指したような生体標本を微視的に捉える神経細胞レベルでの生理学的研究、巨視的に捉える神経回路レベルでの生理学的研究をそれぞれ相補的に行なっていく事が極めて重要であると考えられる。

審査結果の要旨

脳における記憶・学習機構を理解するためには微視的な手法でシステム構成要素における過程を理解した上で、巨視的な手法によりシステム全体の挙動を解明しなければならない。本研究はこの観点に立ち、神経系において記憶・学習とは関連が最も薄いことが予想される交感神経-副腎髄質間のシナプス機構と、それに最も密接に関連しているといわれる海馬およびその周辺領野の神経機構を、それぞれ電氣的、光学的手法により捉え、重要な発見を行っている。本論文はこれらの成果をまとめたものであり、全編5章からなる。

第1章は序論である。

第2章は研究の背景である。1) シナプス伝達機構；2) 記憶・学習機構；3) 側頭葉内側部の記憶機構について現在まで知られている知見について概説している。

第3章では、中枢神経系のモデルとしての副腎髄質スライス標本作製法と、ホールセルパッチクランプ法について述べた後にシナプスにおける挙動を解析している。自律神経系では初めて明確にシナプス伝達は量子的であるという実験事実を提供し、さらに伝達効率の確率的な挙動からこのような単純なシナプスでも可塑性を持ちうると結論している。これらは重要な発見である。

第4章では、記憶・学習機構を神経回路システムにおいて捉える立場へと視点を変え、側頭葉内側部の記憶機能について述べている。まず、海馬傍回-海馬神経回路におけるスライス標本作製法、光学測定の適用方法、ガラス管微小電極による細胞内記録法、および組織化学の方法について述べた後、嗅内皮質と海馬神経回路の相互作用、および嗅内皮質-嗅周囲皮質間の神経興奮伝達機構に関して得られた結果について記している。嗅内皮質内の反響回路の存在を明らかにし、数度にわたる興奮循環の後に海馬へ興奮が伝達されることを新たに発見した。さらに嗅内皮質と嗅周囲皮質との境界において興奮の遅延現象を発見し、この興奮の持続・蓄積が起こっているのはブロードマン第35野であることを見出した。これらは極めて重要な発見である。

第5章は結論である。

以上要するに本論文は、学習・記憶に関連する重要な発見を報告したものであり、脳を総合的に解析するという提言とともに、生体情報学に大きな寄与をしている。

よって、本論文は博士（情報科学）の学位論文として合格と認める。