

学 位 論 文 題 名

Signal transmission mechanisms
by neurons and glial cells in the cerebral cortices
— *in vivo* and *in vitro* studies

（大脳皮質における神経細胞および神経膠細胞による情報伝達機構）

学位論文内容の要旨

脊椎動物、特に哺乳類の大脳皮質を構成する細胞は、大きく2つに分けられる。神経細胞と神経膠細胞である。大脳皮質において遂行される様々な情報処理機能の解明には、この2種類の細胞における情報伝達の機構について、マクロ・ミクロ両方の視点から総合的にアプローチすることが不可欠である。神経細胞は、その活動電位によって神経回路の情報伝達を担うことが古くから知られており、素子としての性質がよく調べられているので、システムレベルの研究が可能である。一方、神経膠細胞が神経活動に果たす役割は未だ不明な点が多く、細胞レベルでの基本的な機能を解明することが先決といえる。

本論文では、神経細胞についてサル下側頭葉皮質における視覚的物体表現機構をシステムレベルで解析し、また、神経膠細胞についてラット星状膠細胞でのギャップ結合の生理学的役割を細胞レベルで解析した。

マカクサル大脳皮質にあるTE野は、純粋に視覚情報を処理する領野としては最終段階に位置している。このため、物体像の知覚と認識の研究において、これまでTE野の神経細胞の視覚応答特性が、主に細胞外活動記録法により詳しく調べられている。それらの電気生理学的研究では、TE野の神経細胞は、複雑な物体そのものに忠実しているのではなく、その中に含まれる部分特徴に忠実していること、さらには、よく似た刺激選択性を持つ細胞どうしが集まっていること（図形特徴コラム）が示されている。従って、複雑な物体像は、異なる図形特徴に応じる図形特徴コラムの活動の組み合わせで表現されていると予想されるが、従来の細胞外電極記録法では、多数の神経細胞の活動を同時に捉えることが困難であったため、この問題に直接答えることは不可能であった。

本論文第1章では、複数の細胞の活動を同時に捉えることのできる光学計測法を利用して、この問題にアプローチした。内因性信号の光学計測法は、主に神経活動に伴って引き起こされる酸素消費によるヘモグロビンの脱酸素化を、皮質表面の暗化として検出できる。この方法を用いれば、ある視覚刺激に応じる神経細胞群の分布パターンをコラム単位で見ることができる。まずは様々な複雑な物体像を視覚刺激として用いて、光学計測法で得られるTE野のコラムの活動パターンを詳細に検討した。その結果、視覚刺激としての物体像はTE野の複数のコラムを活性化し、観察されたコラムの活性化パターンは刺激ごとに異なっていた。次に、複雑な物体像と、それを単純化して、一部の図形特徴を取り去ったものを視覚刺激として用いて、図形特徴コラムの活動の分布にどのような変化が起こるか解析した。刺激を単純化すると、一部のコ

ラムの活動が消失するのが観察された。それらのコラムに存在する神経細胞は、刺激の単純化によって取り去られた図形特徴に依っていたことが細胞外活動記録法によって確かめられた。これらのことは、物体像がその中に含まれる図形特徴の組み合わせで表現されていることを示す有力な証拠となった。さらには、図形の単純化によって新しく活性化するコラムがあることも発見された。これらのコラム内に存在する神経細胞の応答特性を、細胞外電極記録法により詳細に調べると、単純化する前の刺激に含まれていた図形特徴が、神経細胞の応答性に抑制的な影響を与えており、そのために、単純化する前の刺激には細胞は応答しなかったということが分かった。以上の実験結果から、物体像はその中に含まれるすべての図形特徴をコードするコラムの単なる和として表現されているのではなく、図形特徴間の相互作用によって活動を抑制されたコラムも含めた組み合わせで表現されていることが示された。

一方、複雑な物体像が、その中に含まれる部分的な図形特徴をコードするコラムの活動の組み合わせで表現されているとすると、図形特徴間の空間的な配置はどのように表現されているのが疑問となる。これを解明するために、第2章では、まず光学測定法を用いて、図形特徴間の空間的な配置をコードしている可能性のあるコラムを探索し、その後、細胞外電極記録法により、注目するコラム内に存在する神経細胞の応答性を詳細に検討した。光学測定では、複雑な物体像とその一部を取り去ったものを視覚刺激として用いた。観察された複数のコラムの中において、物体像全体の提示では活動が見られるものの、一部分を取り去ったものの提示では活動が消失するコラムにのみ注目し、そのようなコラムの活動が、図形特徴間の空間配置の表現に関係していると考え、その中に存在する神経細胞の応答性を、細胞外電極記録法により詳細に検討した。その結果、注目するコラム内の神経細胞は、視覚刺激に含まれる局所的な図形特徴には選択性が低いこと、刺激全体の大まかな形に対する選択性が高いこと、さらには、刺激を部分に分けたとき、その部分の空間的配置に高い選択性があることが分かった。これらのことは、物体像は、その中に含まれる局所的な図形特徴をコードしているコラムと、局所的な図形特徴の配置をコードしているコラムの組み合わせで表現されている可能性があることを示している。第1・2章を通して得られたこれら一連の発見は、TE野における神経細胞による物体像の表現機構に関して重要な知見を与えた。

第3章では神経膠細胞における細胞レベルでの情報伝達機構について研究した。神経膠細胞の中でも、星状膠細胞は多様な神経伝達物質を生産・分解する能力があり、神経伝達物質に対するレセプターやトランスポーターも多く発現しているため、神経細胞の情報伝達効率の調節を直接担っている可能性が高い。星状膠細胞は、星状膠細胞どうしてもネットワークを作り、細胞内カルシウム濃度を変化させることによって、情報伝達を行っていることが示唆されている。しかし、星状膠細胞のネットワーク自体は、いったい何によって協調的な形成がなされるのかを明示した例はない。本論文第3章では、ラット大脳皮質の星状膠細胞の単離培養系を用いて、星状膠細胞間の情報伝達機構についての研究を試みた。星状膠細胞の情報伝達にはギャップ結合が関わっている可能性があり、それを利用して細胞内カルシウム濃度が変化していると予想される。そこで、星状膠細胞をギャップ結合の機能を不活化する薬物存在下で培養し、その影響を調べた。ギャップ結合を阻害した環境で培養した星膠状細胞では、正常な状態で培養した細胞群では見られた、細胞骨格であるアクチンフィラメントの細胞間での協調的なつながりが消失していること、さらには、そのような状態では細胞間のカルシウム波の伝達効率が落ちることが示された。これらのことは、ギャップ結合が星状膠細胞間の協調的なネットワーク形成に重要な役割を果たしていることを示唆している。

これを要するに、以上の一連の研究結果は、大脳皮質における神経細胞および神経膠細胞による情報伝達機構の研究において、大きな貢献を果たすものである。

学位論文審査の要旨

主 査	助教授	伊 藤 悦 朗
副 査	教 授	浦 野 明 央
副 査	教 授	小 池 達 郎
副 査	教 授	高 畑 雅 一
副 査	チームリーダー	谷 藤 学

(理化学研究所脳科学総合研究センター)

学 位 論 文 題 名

Signal transmission mechanisms by neurons and glial cells in the cerebral cortices – *in vivo* and *in vitro* studies

(大脳皮質における神経細胞および神経膠細胞による情報伝達機構)

脊椎動物の大脳皮質を構成する細胞は、大きく、神経細胞と神経膠細胞の2つに分けられる。大脳皮質において遂行される様々な情報処理機能の解明には、この2種類の細胞における情報伝達機構について、マクロ・ミクロ両方の視点から総合的にアプローチすることが不可欠である。神経細胞は、その活動電位によって神経回路の情報伝達を担うことが古くから知られており、素子としての性質がよく調べられているので、システムレベルの研究が可能である。一方、神経膠細胞が神経活動に果たす役割は未だ不明な点が多く、細胞レベルでの基本的な機能を解明することが先決といえる。

本論文では、神経細胞についてサル下側頭葉皮質における視覚的物体表現機構をシステムレベルで解析し、また、神経膠細胞についてラット星状膠細胞でのギャップ結合の生理学的役割を細胞レベルで解析した。

マカクサル大脳皮質にあるTE野は、純粋に視覚情報を処理する領野としては最終段階に位置している。このため、物体像の知覚と認識の研究において、これまでTE野の神経細胞の視覚応答特性が電気生理学的に詳しく調べられている。それらの研究では、TE野の神経細胞は、複雑な物体そのものではなく、その像の中に含まれる部分特徴に反応していること、さらには、よく似た刺激選択性を持つ細胞が集まっていること(図形特徴コラム)が示されていた。従って、複雑な物体像は、異なる図形特徴に応じる図形特徴コラムの活動の組み合わせで表現されると予想されたが、従来の細胞外電極記録法では、多数の神経細胞の活動を同時に捉えることが困難であったため、この問題に直接答えることは不可能であった。

本論文第1章では、複数の細胞の活動を同時に記録できる光学計測法を用いて複数のコラムの活動パターンを記録し、この問題にアプローチした。複雑な物体像とそれらを単純化した視覚刺激を用いて光学測定を行った結果、視覚刺激を単純化すると、単純化されることによって刺激から消失した図形特徴に依っていたコラムの活動がなくなる場合と、刺激の単純化によって新しくコラムが活性化する場合があることが見出された。新しく活性化するコラム内に存在する神経細胞の応答特性を細胞外電極記録法により詳細に調べると、単純化する前の刺激に含まれていた図形特徴によって、神経細胞の応答性に抑制的な影響を与えられていたことがわかった。従って、物体像はその中に含まれるすべての図形特徴をコードするコラムの単なる和として表現されているのではなく、図形特徴間の相互作用によって活動を抑制されたコラムも含めた組み合わせによって表現されていることが示された。

一方、物体像がその中に含まれる部分的な図形特徴をコードするコラムの組み合わせで表現されているとすると、図形特徴間の空間的な配置はどのように表現されているのかが疑問となる。これを解明するために、第2章では光学測定法を用いて、図形特徴間の空間的な配置をコードしている可能性のあるコラムを探索し、そのコラム内に存在する神経細胞の応答性を細胞外電極記録法により詳細に検討した。注目するコラム内の神経細胞は、視覚刺激に含まれる局所的な図形特徴には選択性が低いこと、刺激全体の大まかな形に対する選択性が高いこと、さらには、刺激を部分に分けたとき、その部分の空間的配置に高い選択性があることが分かった。これらのことは、物体像は、その中に含まれる局所的な図形特徴をコードしているコラムと、局所的な図形特徴の配置をコードしているコラムの組み合わせで表現されている可能性があることを示している。

第3章では神経膠細胞における細胞レベルでの情報伝達機構について研究した。星状膠細胞は星状膠細胞どうしてもネットワークを作り、細胞内カルシウム濃度を変化させることによって、情報伝達を行っていることが示唆されている。しかし、星状膠細胞のネットワーク自体は、いったい何によって協調的な形成がなされるのかを明示した例はない。本論文第3章では、ラット大脳皮質の星状膠細胞の単離培養系を用いて、星状膠細胞間の情報伝達機構についての研究を試みた。星状膠細胞の情報伝達にはギャップ結合が関わっている可能性があるため、星状膠細胞をギャップ結合の機能を不活化する薬物存在下で培養し、その影響を調べた。ギャップ結合を阻害した環境で培養した星状膠細胞では、正常な状態で培養した細胞群では見られた、細胞骨格であるアクチンフィラメントの細胞間での協調的なつながりが消失していること、さらには、そのような状態では、細胞間のカルシウム波の伝達効率が落ちることが示された。これらのことは、ギャップ結合は星状膠細胞間の協調的なネットワーク形成に重要な役割を果たしていることを示唆している。

これを要するに、以上の一連の研究結果は、大脳皮質における神経細胞および神経膠細胞による情報伝達機構の解明に大きな貢献を果たすものである。

よって著者は、北海道大学博士(理学)の学位を授与される資格あるものと認める。