

論文の内容の要旨

論文題目 「ナメクジ嗅覚学習中に観察される新規コントラスト増強現象」

氏名 井上 剛

【はじめに】

脳高次機能を探る研究において、現在もっとも活発に研究が行われているのは記憶、学習の分野であろう。この領域が盛んに研究が行われている背景には、記憶、学習のシナプス基盤として考えられるシナプス可塑性と呼ばれる現象が見つかったからであると考えられる。脳はたくさんの細胞、シナプスから構成されるネットワークであり、そのネットワークが情報を貯蓄するためにはその素子基盤として、シナプス可塑性のような長期伝達効率の変化が必要である。しかしこれは記憶のシナプス基盤である。それでは、生物が記憶する際、ネットワークレベルではどのような変化が起きているのであろうか？

自然界には無数の感覚情報が存在し、生物はその中から必要な情報のみを選択的に抽出し、処理することができる。これは必要な情報（シグナル）を担う神経細胞が興奮し、不要な情報（ノイズ）を担う神経細胞が抑制される機構が、生物の脳内に備わっているからに他ならない。これは生物が記憶する際にも必要な情報処理過程である。このような情報の抽出（シグナル・ノイズ間のコントラスト増強）が記憶獲得の際に起きないと、生物は間違った記憶を獲得してしまうであろう。このようなコントラスト増強現象は、生物が記憶する際に実際に脳内で起こっているのであろうか？もし起こっているとしたら、それではどのような脳内神経機構によって達成されているのであろうか？

嗅覚情報処理を担う脳の領域（例えば哺乳類嗅球など）は、興奮性投射神経細胞（projection neuron; PN）と抑制性介在神経細胞（local interneuron; LN）という二種類の神経細胞によって構成されている（Fig. 1A）。このような領域において、匂い認識時におけるコントラスト増強機構に関してこれまで明らかになっており、これは側抑制（Lateral Inhibition）と呼ばれている（Fig. 1B）。しかし一方で、匂い学習中における脳内挙動は未だ明らかではない。その主要な原因は、生物の学習中に、中枢神経細胞からパッチクランプ法などを用いて膜電位を記録することが困難であることにある。

そこでこのような問題点を打破するため、私は軟体動物であるナメクジの単離全脳標本を用いた学習系を修士過程において開発した。単離全脳標本の利点は、神経細胞からの電位記録が、動物個体からの記録と比べると非常に容易に行える点である。今回、この実験系を用いることによって、匂い学習虫において観察される、側抑制とは異なる新規コントラスト増強現象を発見したので報告する。

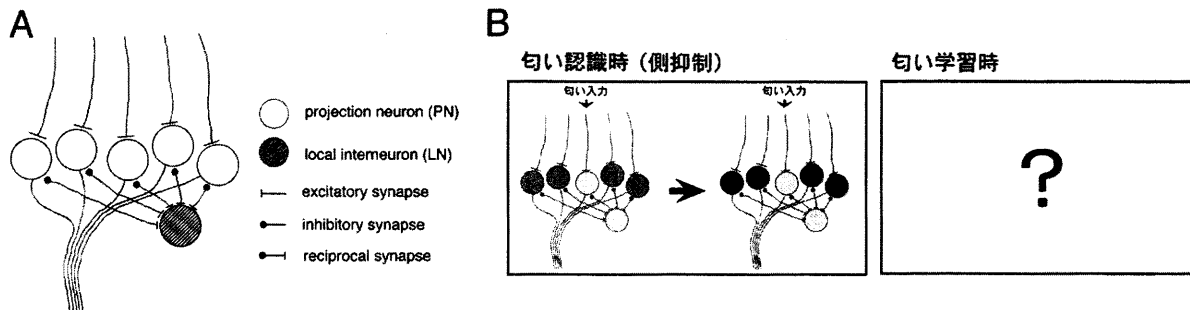


Fig.1A 嗅覚中枢のシナプス結合様式, Fig.1B (左)嗅覚中枢における匂い認識時におけるコントラスト増強現象(側抑制)。明るい細胞の色は脱分極、暗い細胞の色は過分極を示す。匂い入力によって興奮したPNはLNを興奮させ、LNの興奮はその他のPNを過分極させる。(右)本研究の目的

【方法と結果】

(1) ナメクジ単離脳学習系における学習中の脳内膜電位変化

ナメクジ単離全脳標本における匂いの忌避学習において、条件刺激 (CS) は匂い受容体に対する誘引性の匂い刺激であり、無条件刺激 (US) は求心性神経束である味覚神経束の電気刺激である。そこで学習中、すなわち CS と US を同時に与えている際の、ナメクジ嗅覚中枢である前脳 (Procerebrum; PC) における局所場電位 (LFP) 振動の修飾について調べた。前脳の神経細胞群 (約 10^5 個) の膜電位は自発的に同期した振動活動を示すために、細胞外記録においても LFP 振動として記録することができる。その結果、この LFP 振動は学習時において、その振幅は小さくなり、その振動数が上昇することが明らかになった。また同様の LFP 振動の修飾は US のみで生じることも明らかとなった。これらの結果は学習中における前脳神経細胞群の電位変化の大部分は、US によって引き起こされていることを示している。

(2) US 入力は前脳 projection neuron を過分極させる

そこで次に、US 入力によって引き起こされる前脳神経細胞の膜電位の修飾について調べた。前脳の 10^5 個の神経細胞は PN と LN という二種類に分類され、そのシナプス構造も他種の嗅覚中枢と非常に類似している (Fig. 1B)。そこで前脳神経細胞からパッチクランプ法を用いて細胞内記録を行い、US の効果を調べた。US 入力である味覚神経束の電気刺激を与えると、前脳 LN におけるバースト頻度は増大した (Fig. 2A; upper trace)。LN から PN へは抑制性のシナプス結合が存在するので、その結果 PN への抑制入力頻度が上昇し、結果として PN を過分極させることが明らかとなった (Fig. 2A; lower trace)。

(3) US 入力は前脳 projection neuron における膜の興奮性を増大させる

そこで次に、PN の膜の興奮性が US 入力によってどのように修飾されるのかをしらべた。PN から細胞内記録下、一定の興奮性電流を注入すると、PN は活動電位を発射する (Fig. 2B; upper trace)。そして、US を与えつつ、かつ同量の興奮性電流を注入すると、PN の活動電位の発射頻度が上昇することがわかった (Fig. 2B; lower trace)。また無条件刺激時におけるこの活動電位の発射頻度の上昇は、活動電位が発射したあとの後抑制 (afterhyperpolarization) が阻害されるために静止電位がすこしづつ脱分極していくためであることが明らかになった。以上をまとめると (2) および (3) における結果は、US 入力は PN において過分極を与えるものの、膜の興奮性は上昇させることを示している。

以上の結果は、匂い学習中における、側抑制とは異なる神経メカニズムに基づく新規なコントラスト増強現象を示している。このコントラスト増強現象は、US 入力によって達成される。US 入力は PN において過分極を引き起こす一方、もし匂い入力によって PN が興奮し閾値を越えると活動電位を頻回発射させる。そこで次に、味覚神経束の電気刺激 (US 入力) がどのような経路を介して、前脳においてコントラスト増強効果を引き起こすのかを調べることにした。

(4) US 経路の同定

味覚神経束から前脳への経路を調べるために、その二つを仲介する神経細胞を同定することを試みた。Fig. 3A には今回同定した神経細胞の形態を示している。この神経細胞は細胞体の直径が約 40 μm であり、ナメクジ脳において左右一対存在する、個体を越えて同定可能な神経細胞であった。その細胞体は前脳の外に存在するものの、その神経突起は高密度に前脳へ投射していることが明らかになった。またこの神経細胞は神経修飾物質であるセロトニン含有神経細胞であることもわかった。そこでこの神経細胞を Serotonergic Facilitator neuron (SF neuron) と名づけた。味覚神経束を電気刺激すると、SF neuron には興奮性の入力が入り、活動電位を誘発した (Fig. 3B)。次に SF neuron に一定の興奮性電流を注入することによって活動電位を誘発させたところ、前脳 LFP 振動は US 入力によって観察される振動の修飾と同様の変化、すなわち LFP 振動の振動数の上昇とその振幅の減少を示した (Fig. 3C)。そしてこのような LFP 振動活動の変化は、ただ前脳にセロトニンを還流することによっても生じることが明らかになった。これらの結果は US 入力による前脳神経活動の修飾にはセロトニンが関与しているということ、そしてこのセロトニンによる変化は、主として SF neuron を介して行われていることを示唆している。

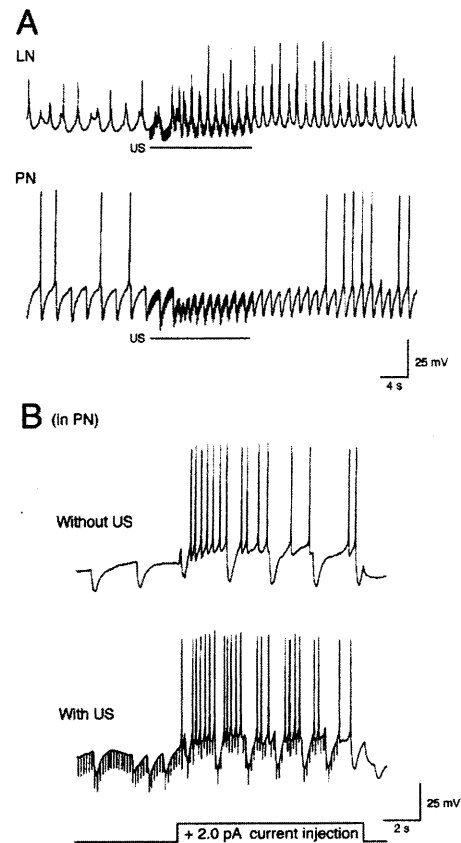


Fig.2A US 入力による前脳神経細胞の膜電位の変化, Fig.2B US 入力による PN の膜の興奮性の修飾。

(5) 単一神経修飾物質セロトニンによるコントラスト増強現象の誘発

そこで前脳のみを単離した標本において、セロトニンを灌流投与した際の、前脳 PN および LN の膜電位変化について調べた。記録はパッチクランプ法による細胞内記録によっ

て行った。セロトニンの灌流投与は、LN におけるバースト頻度を上昇させ、PN における抑制性入力の頻度を上昇させた。これは結果として PN を過分極させた。しかし一方で、セロトニン投与下における膜の興奮性の修飾に関して調べたところ、セロトニンは PN における活動電位発射頻度を上昇させることが明らかとなった。すなわちこれらの結果は、US 入力によって誘発される前脳におけるコントラスト増強現象は、単一の神経修飾物質セロトニンによって誘発されることを示している。

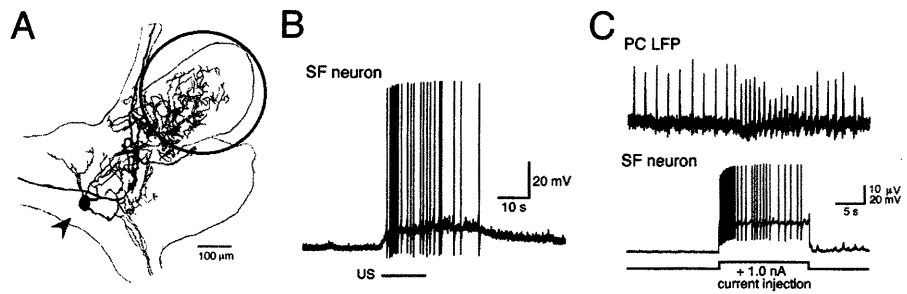


Fig.3A SFneuron の形態。矢尻はその細胞体を示す。また丸印は前脳(PC)を示す。Fig.3B US 入力に対する SFneuron の応答。Fig.3C SFneuron 活動電位に対する前脳 LFP 振動の修飾。

【まとめと考察】

これまでの研究において、匂い (CS) 入力によって誘発される側抑制と呼ばれるコントラスト増強現象およびその神経機構については明らかになってきた。そして本研究において私は、学習中における、US 入力によって誘発されるコントラスト増強現象、およびその神経機構について明らかにした。学習中には CS と US の二つの入力が入ってくる。すなわちこの二つのコントラスト増強効果によって、学習中における嗅覚中枢では、覚えるべき匂いのシグナルに対する神経可塑性がより正確に形成されていくものと考えられる。

今回明らかになったコントラスト現象のメカニズム的に新しい点は、膜性質に関して考慮した点であろう。これまでの側抑制のメカニズムにおいては、コントラスト増強はただ単に過分極入力と脱分極入力の線形加算によって達成されていた。しかし今回明らかにしたコントラスト増強は、過分極入力と閾値以上における膜の興奮性の上昇という相反する二つの非線型加算によって達成される。膜性質を考慮することによって、構造的に固定された神経ネットワークにおいても、多くのバリエーションを持った情報処理様式を導き出すことができる。

今後の課題としては、哺乳類嗅覚中枢におけるコントラスト増強現象の存在の有無を調べ、その神経メカニズムを明らかにすることであろう。具体的な実験法としては、動物が学習する際の嗅球神経細胞からの細胞内記録 (*in vivo* intracellular or patch clamp recording) が必須であると考えられる。