

## 審査の結果の要旨

氏 名 藤澤 茂義

神経細胞の同期的活動は認知や知覚の過程に深く関わっていると考えられている。しかし、神経細胞のネットワークにおいてどのように同期活動が形成され、それがどのように個々の神経細胞の情報処理活動に関係してくるのかは、未だ明らかにされていない。海馬 CA3 領域では、反回性回路(リカレントネットワーク)と呼ばれる神経細胞同士の密な連絡があり、脳の神経回路の中で重要な局所回路の一つ考えられている。本研究では、この海馬の CA3 野におけるリカレントネットワークにおける同期活動の形成メカニズムおよび情報処理活動との関係について解析した。

### 1. 海馬錐体細胞のカオス的な膜電位の振動

リカレントネットワークでバックグラウンドに存在する周期的な電位の振動に対する神経細胞応答を研究した。海馬分散培養細胞にパッチクランプ法を適用し、周期的な電位の振動を生じさせた。振動周波数が低い時 (~10Hz) は規則正しい応答を行うが、電位振動の周波数が高くなる (~20Hz) とカオス状態と呼ばれる不規則な応答を行う状態に遷移した。このカオス状態は、BDNF (脳由来神経栄養因子) を適用することにより抑制された。この結果より、海馬錐体細胞の応答性は、バックグラウンドの振動の周波数の違いにより大きな影響を受けており、さらに BDNF がそのような周波数依存的な応答性を調整する役割を持つことを示唆した。

### 2. CA3 リカレントネットワークでの発火パターンにおける gamma 波の作用

リカレントネットワークでの発火パターンにおける gamma 波の役割を調べるため、海馬スライス培養切片 CA3 領域での電気生理学実験を行った。CA3 の錐体細胞層に刺激電極をおき、数 100 $\mu$ m 離れた錐体細胞の膜電位測定を行った。刺激電極から比較的小さな単発の電気刺激を与えた場合には、ある潜時の後に発火が生じた。比較的小さな入力でも、リカレントネットワークによって刺激入力が増幅されたためであると考えられる。刺激入力から発火までの潜時は試行ごとに大きく変化した。次に、バックグラウンドに gamma-band (40Hz) の電場を生じさせた状態で、同様の実験を行った。刺激電極を通して細胞外よりサイン波の電場を与えることにより、CA3 領域に gamma-band の oscillation 電場を作成した。gamma-band oscillation が存在する状態で単発の電気刺激を与えた場合、刺激入力から発火までの潜時の試行ごとのばらつきが減少し、初発の発火タイミングの CV 値を計算したところ、gamma 電場なしのときと比べて有意に減少していることが測定された。すなわちバックグラウンドに gamma-band oscillation が存在することによりリカレントネットワークにおけるスパイク伝達の精度が上昇した。

次に、ネットワーク内でどのようなシナプス伝達が行われているのかを明らかにするため、細胞内に局所麻酔薬を適用して発火を抑えた状態で検討した。その結果、弱い単発刺激でも gamma-band oscillation が存在すると一定の潜時の後に膜電位が gamma 波に同期して振動する現象を見出した。このような膜電位の同期は、ネットワークによって増幅されたものと考えられ

た。膜電位の  $\gamma$  波同期振動に関与するシナプス入力を検討した結果、non-NMDA 型受容体を介するグルタミン酸神経伝達が主で、NMDA 型受容体も一部関与することを明らかにした。さらに、バックグラウンド  $\gamma$  oscillation の周波数を変化させると、シナプス入力の  $\gamma$  波同期の大きさは、 $\gamma$  波の周期によって変動することを見出し、ネットワーク全体の周波数特性がダイナミックに変わる可能性を示唆した。

### 3. CA3 錐体細胞に生じる刺激依存的な自発的発火パターンの変化

海馬スライス培養切片にムスカリン受容体作動薬のカルバコールを適用し全体の興奮性を上昇させた状態で、CA3 野錐体細胞の膜電位の同期的活動を解析した。500 ミリ秒の電流刺激を 10 秒ごとに適用し、リカレントネットワークを刺激すると、CA3 野錐体細胞の発火パターンが段階的に変化する現象が観察された。発火パターンは、static な状態、sporadic な発火、burst 発火、UP-DOWN、および theta 的な persistent 発火の 5 段階が存在し、それぞれの状態を state I ~ V と定義した。non-NMDA 型および NMDA 型受容体さらに GABA<sub>A</sub> 受容体を遮断しておくこと、この状態遷移が観察されなくなるので、シナプス入力に依存した現象であると考えられた。

次に、二つの細胞から同時記録を行った。一方の細胞にのみ電流入力すると、他方の刺激をしていない細胞も同期して状態遷移をしたので、state の遷移はネットワーク全体の活動レベルにより変化することが示唆された。発火閾値下の膜電位同期が state によってどのように変化するかを調べるために、各状態での膜電位の cross correlation を計算した。state I に比べて、state IV では周波数 5~10Hz 程度の同期活動が強くなっていた。つまり、state の変化に従ってネットワークの同期活動が変化するというを示唆している。

このような現象のメカニズムを解析するために、統計学的挙動に従うと仮定し、固体統計物理における相転移理論を応用してモデル理論を構築した。その結果、この理論はネットワーク状態遷移の現象をよくシミュレートできることが明らかになった。

従来の海馬を用いたシナプス伝達解析研究は標的以外のシナプス活動を抑制し、バックグラウンドノイズを減少させた状態で、目的のシナプス伝達のみを分離して行われてきた。しかし、本研究では、海馬培養細胞および海馬スライス培養切片を用いて、神経細胞の同期活動とその応答性に着目して解析した。その結果、海馬神経伝達がバックグラウンドに存在する神経回路全体の活動により、ダイナミックに変動し、回路の興奮性の遷移や周波数特性が変わりうることを示した。こうした「ネットワーク活動を評価する」という研究は、認知や記憶のメカニズムを考える上で今後ますます重要になっていくと考えられ、本研究はその基本的な視点を与えるものである。このように本研究は神経科学分野の進展に貢献するものであり、博士(薬学)の学位に値すると結論された。