

論文審査の結果の要旨

氏名 後藤 美穂

本論文は 5 章からなり、第 1 章では研究背景並びに関連分野の動向に関する考察に基づき、目的と具体的な課題が提示されている。すなわち、脳神経系における情報表現・処理の観点から最近報告された神経雪崩 (Neuronal Avalanche) 現象に焦点を当て、そのメカニズムに関して、特にマイクロ加工技術を積極的に利用する立場から研究することが本研究の立場であり、(1) シンプルな構造を持つ神経回路を人工的に形成する手法の開発、(2) 発生・発達過程における Neuronal Avalanche 現象の追跡、(3) Neuronal Avalanche 現象の神経回路構造依存性に関する知見を得ることを目的として設定している。

第 2 章では、シンプルな構造を持つ神経回路を人工的に形成する手法につき記述している。“神経突起の成長方向制御”は神経細胞が標的組織を認識するメカニズムの視点から 30 年以上の研究の歴史があり、これまでに様々な手法が提案されてきた。フォトリソグラフィを利用する基板表面の構造制御、マイクロコンタクトプリンティングによる基板表面の化学的改質がその代表的な方法であるが、設計した神経回路構造を長期間維持する十分な手法は確立されておらず、現在でも研究途上にあるのが実情である。本研究では細胞接着性の低いアガロースゲルを基板表面に塗布し、その上にマイクロピペットに充填した細胞接着性物質 (poly-D-lysine: PDL) で回路パターンを描くという手法につき検討した。マイクロピペットの先端径、充填する PDL 溶液濃度など条件の最適化により、神経回路パターンの人為的な制御に十分な精度 (最小線幅 8 μm) が得られることを確認した。開発した手法は電動ステージ付倒立顕微鏡、マイクロマニピュレータ、マイクロインジェクタ等電気生理学実験において標準的に使用する機器のみで実現できるシンプルな手法であり汎用性が高い。本手法により描いたドット及び格子パターン上でラット大脳皮質から採取したニューロン群の分散培養を行い、1 ヶ月間のパターン維持が可能であることを示した。

第3章では、微小電極アレイ基板（MicroElectrode Array: MEA）に上記マイクロパターン形成手法を適用して神経活動を計測する手法に関する検討結果を記述している。MEAは神経スパイク発生時の微小電流を検出するため、表面のアガロース層の影響につき検討を要する。結果として、計測される信号はアガロース層の膜厚に依存してその周波数特性が変化すること、成長方向制御の特性を失わない範囲で薄膜化することにより実用上十分な信号／雑音比が得られることがわかった。

第4章は、MEA上で培養した大脳皮質神経回路につき、発生開始から最長2ヶ月に至る過程での自発電気活動を観測し、Neuronal Avalanche現象を指標とする評価・解析を行った結果である。培養開始から3週間以後の試料ではNeuronal Avalanche現象に特徴的な活動の規模と発生確率の関係（対数プロットにおける直線近似が成り立つ）が認められること、それ以前の段階では小規模な活動主体から徐々に3週間以降の定常状態に向かう遷移が見られることが明らかになった。神経回路を構成する細胞数と結合構造を人為的に制御したシンプルネットワークについても同様の計測・解析を適用した結果、発生する活動の特性が異なるとの結果が得られた。神経回路の構造と規模、受容体やシナプス結合の成熟など、多様な要因について個別にその寄与を理解する端緒となる結果であると言える。今後は単一細胞レベルから規模と結合構造を精密に制御した神経回路を構成し、Neuronal Avalanche現象が発現する条件につき系統的な実験を進めることが課題となる。これらの理解を通じて細胞集団のNeuronal Avalanche現象が脳神経系の情報表現・処理に果たす意味を明らかにすることが期待できる。

以上、設定した3つの課題に対して得られた研究結果に基づき、第5章で結論と今後の展望について総括している。なお、本論文第2章、第3章、第4章は、神保泰彦、小谷潔、森口裕之、高山祐三、齋藤淳史、齋藤亜希、岩淵慎との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験及び解析を行ったものであり、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

従って、博士（科学）の学位を授与できると認める。