

研 究 報 告 書

「大脳基底核回路網のハイブリッドシステムモデリング」

研究期間：平成 19 年 10 月～平成 23 年 3 月

研究者：舘野 高

1. 研究のねらい

大脳基底核は大脳皮質、視床、脳幹などと神経結合をもつ神経核群であり、運動、情動、学習などの多様な機能を担う重要な脳の部位である。近年、アルコール、タバコ、麻薬などの物質を過度に繰り返し摂取することが原因で起こる物質依存症、あるいは、薬物嗜癖とよばれる物質関連障害と大脳基底核の働きは重要な関連があることが解ってきた。現在、薬物嗜癖の分子や細胞レベルでの研究には多くの知見が蓄積されつつある。また、薬物嗜癖に関連する物質は快情動を引き起こす物質であることが多いことから、その仕組みの解明は、ヒトの意思決定に深く関与する情動の発現メカニズムの解明にも繋がると期待されている。このように、薬物嗜癖のメカニズムを探る研究には、分子や細胞レベルのミクロな研究からヒトの意思決定に至るマクロな脳機能まで、生体を構成する複数の階層間で起こる現象を関係付ける研究アプローチが必要であり、数理モデルが有用であると考えられる。しかし、このような場合の多くの数理モデルは、対象とする現象を単純化・抽象化することによって得られるために、物質レベルの研究結果と直接的な因果関係を理解する場合に困難が生じる。本研究では、脳内の強化とよばれる現象に関連するミクロな分子ネットワークからマクロな大脳基底核の回路網までの数理モデルを扱った。特に、ミクロなモデルとマクロなモデルの接点として、大脳基底核の神経細胞の局所的回路を取り上げた。そして、実際の脳の神経細胞と計算機上に構築した数理モデルをハイブリッド化することによって、神経細胞とその回路網の働きのいくつかの点を理解することを目指した。

2. 研究成果

(1)ダイナミック・クランプ法を用いた細胞膜のイオンチャネル及び受容体の動態モデル
パッチクランプ法は、薬剤の神経細胞に対する急性の応答を知るために、細胞膜のイオンチャネルや受容体の電気生理学的特性を測定する手法の一つである。特に、電流固定による全細胞パッチクランプ法は、微細なガラス電極と細胞膜の間に強固なシールをパッチ状に形成して、電流を固定しながら細胞膜電位を計測する方法である。近年、その手法を拡張して、実時間で膜電位を計測しながら、その計測電位に応じて時間的に変動する固定電流を細胞に注入するダイナミック・クランプ法とよばれる手法が、細胞膜の動的特性を理解するために利用されており、本研究ではこの方法を応用した(図1)。この手法の利点は、数理モデルに基づいて電流を細胞に注入させ、架空のイオンチャネルや受容体を細胞膜に仮想的に発現させることができる上に、同様に、細胞膜に既に発現しているイオンチャネルや受容体を発現していないかのように、その電流成分を打ち消すことができる点にある。また、この手法を用いれば、対象の数理モデルの検証が実際の細胞を利用して実時間で可能となる。本研究では、この方法を応用して、げっ歯類の中脳及び大脳基底核の神経細胞種のイオンチャネルと受容体に対して、常微分方程式から成る数理モデルを作成した。そして、実際の神経細胞を用いて、特定のイオンチャネルに対する数理モデルを検証した。その結果、83種類のイオンチャネルと受容体を含

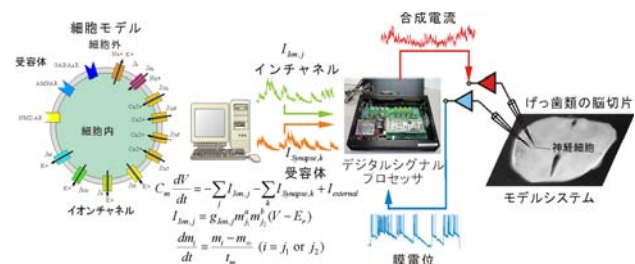


図1、ダイナミック・クランプ法の概念図

む9つの細胞種の興奮膜の数値モデルを作成し、そのモデル係数を決定した。特に、黒質緻密部と腹側被蓋野のドーパミン作動性細胞を対象に実験を行った結果、自発的な発火活動とその発火モードの遷移にイオンチャネルである hyperpolarization-activated cyclic nucleotide gated (HCN)チャネルとカルシウムイオン依存型カリウムイオン(small conductance, SK)チャネルが重要な役割を果たしていることが判った。

(2) イメージング・ダイナミック・クランプ法の新規開発

カルシウムイオン(Ca^{2+})は、細胞膜にあるイオンチャネルや受容体から細胞内に流入し、あるいは、細胞内ストアから放出されることで細胞膜電位を変動させる。また、 Ca^{2+} はセカンドメッセンジャーとして細胞内の様々なシグナル伝達系などに重要な役割を果たしている。本研究では、細胞内のカルシウム動態と細胞膜の興奮性を理解するために、カルシウム指示薬のイメージング法を使って、上記のダイナミック・クランプ法を拡張した実験系(イメージング・ダイナミック・クランプ法)を構築した。特に、本研究では、カルシウム指示薬(Fura 2)の蛍光強度を計測すると同時に、細胞内カルシウムイオン濃度を実時間で推定し、膜電位変動の情報と合わせて、注入電流を細胞に加える方法を開発した(特許出願中)。この手法を応用することによって、SKチャネルがドーパミン作動性細胞の発火モードに重要な役割を果たしていることを数値モデルとそのモデルに基づく実験によって示した。また、実時間で人工的なSKチャネル電流を神経細胞に注入することで、細胞の発火モードを遷移させることができることを示した。この結果は、イオンチャネル電流の数値モデルのパラメータを上記の実験中に推定することで可能になり、イオンチャネル動態の数値モデルが膜電位の発火モードを遷移させる意味では妥当であったことを示している。

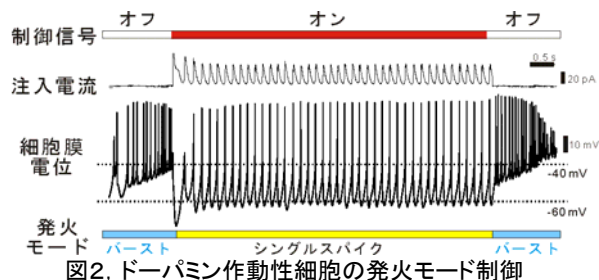


図2. ドーパミン作動性細胞の発火モード制御

(3) アルコールがドーパミン作動性神経細胞へ及ぼす急性の影響と局所回路網での発火活動変化

過度の飲酒の繰り返しはアルコール依存症を引き起こすことは今日よく知られている。また、従来からアルコールが神経細胞やその回路網に及ぼす急性及び慢性の影響は多くの知見がある。しかし、どのようなメカニズムと神経回路網の変化によって、アルコール依存症が生じるのかという問いには、今日でも十分に答えることはできない。本研究では、中脳のドーパミン作動性細胞におけるアルコールの急性応答とその細胞が神経回路網の中で果たす初期段階での役割の一端を理解するために、パッチクランプ法を用いて細胞動態の変化を調べた。まず、アルコールはドーパミン作動性細胞と抑制性神経細胞の HCN チャネル動態を変化させることが実験の結果から判明した。次に、実際の神経回路網に基づく、右図に示すような2種類の単純化した局所神経回路を考えて、それらの回路網内の神経細胞の発

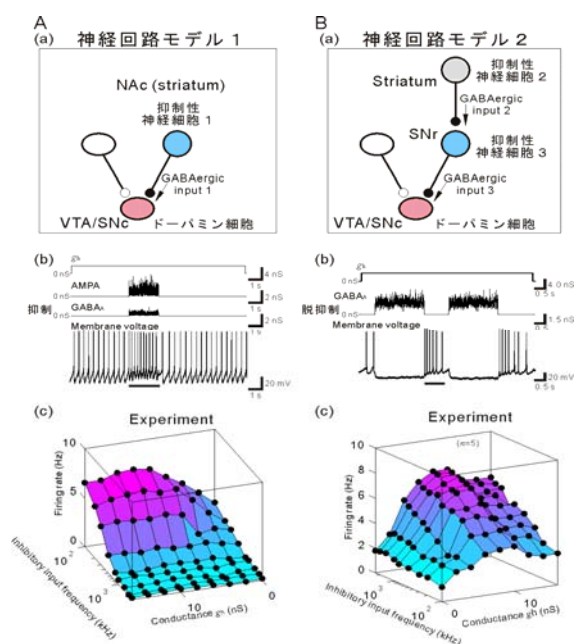


図3. エタノールが2つの局所回路でドーパミン細胞の発火活動に与える影響

火活動が、アルコールの影響によってどのように変化するかについて脳切片を用いた実験を行い、その後に結果を解析した。実際には、数理モデルと脳切片内の神経細胞のハイブリッドモデルを作成して、特に HCN チャンネルに着目してダイナミック・クランプ法で実験を行った。その結果から、アルコールの存在下では、抑制性細胞のドーパミン作動性細胞への抑制性入力と HCN チャンネルは、相互依存的にドーパミン作動性細胞の発火活動を変化させることが解った。特に、アルコールの効果として、脱抑制によるドーパミン作動性細胞の発火活動は図の係数空間内で先鋭化されて(右下図 3Bc)、投射先でのドーパミンの放出量の変化を特徴的に増加させる可能性があることが解った。この結果は、哺乳類の生体内でアルコールを摂取した際に起きる現象であると考えられる。

3. 今後の展開

本研究課題では、主に、細胞膜のイオンチャンネルと受容体の数理モデル、及び、大脳基底核の神経細胞間のハイブリッドモデル実験系を中心に研究を行った。しかし、薬物依存症・嗜癖のメカニズムの解明には、薬物の急性応答後の神経回路網の長期的変化が最も重要であり、この点には十分な時間を割くことができなかった。本研究では、研究助成期間内に、上記のハイブリッドモデル実験系の内容に加えて、嗜癖に関係する神経伝達物質の細胞内シグナリング、薬物強化、行動選択などの数理モデルの作成に取り組んだ。これらの数理モデルは、ミクロな分子ネットワークの相互作用からマクロな脳の機能の現象を扱っており、抽象化のレベルが大きく異なる。そこで、本研究では、複雑な多次元の数理モデルの時間と空間スケールを粗視化して、低次元に簡略化する手法を応用することで、階層構造の上下に隣接する数理モデルを連結することに具体的なモデルを使って取り組んだ。こうした数理モデルを用いた方法が薬物嗜癖に共通するメカニズムの解明に繋がると同時に、既に、物質レベルで判明している現象を理解する上で研究者の助けに繋がるのではないかと期待している。また、数理モデルで予測される現象を、実際の生体を使った実験によって検証していくことが重要であり、今後の課題として研究を継続していきたい。

4. 自己評価

本研究では、当初の目標課題にできる限り忠実に研究スケジュールを設定して、実行しようとした。しかし、研究開始の当初の目標に、特許出願は予定しておらず、実験課題遂行の中で、新たな計測系が実現できることが判明し、特許出願を行うことになった。また、研究課題の実行過程で特許出願のための実験に多くの研究時間を割く必要があり、助成期間の半ばから研究スケジュールが予定外に遅れることになった。このために、特に、単一神経細胞におけるイオンチャンネルの発現遺伝子とその数理モデルの力学系の特徴を関係付ける実験、及び、解析を行う時間が少なくなり、設定した目標を十分に果たすことができなかった。この点を考慮すると、自己評価としては、70%程度の達成度であると考えている。また、研究助成期間に行った研究内容の多くは、現時点で未発表や論文投稿中であるために公開しておらず、今後、順次、研究会や会議等で発表していく予定である。

5. 研究総括の見解

実際の脳の神経細胞と計算機上に構築した数理モデルをハイブリッド化して、大脳基底核の神経回路網の働きを探るといふ、非常に斬新なアイデアにもとづくユニークな研究であった。この研究課題の達成には高度な実験技術が必要であるが、緻密な実験計画と優れた解析力により正確なデータ取得に成功し、このハイブリッドモデルの有用性を方向づけた点が高く評価される。特に、薬物嗜癖のメカニズムに関連して、中脳のドーパミン作動性細胞におけるアルコールの急性応答に注目した解析を進め興味深い結果を得ている。これらの研究は当初予定していなかった特許出願に結びつき、大阪大学の評価を得て大学承継となった上に、さらに海外 PCT 出願も承認されたことは特筆に値する。

6. 主要な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

1. Takashi Tateno and Hugh P.C. Robinson, "Integration of broadband conductance input in rat somatosensory cortical inhibitory interneurons – an inhibition-controlled switch between intrinsic and input-driven spiking in fast-spiking cells" J. Neurophysiol., 10, 1056 – 1072, (2009)
2. Takashi Tateno, "A small-conductance Ca^{2+} -dependent K^+ current regulates dopamine neuron activity: a combined approach of dynamic current clamping and intracellular imaging of calcium signals" NeuroReport, 21, 667–674, (2010)
3. Gouwens et al., "Synchronization of firing in cortical fast-spiking interneurons at gamma frequencies: a phase-resetting analysis" PLoS Computational Biology, 6, 1–13, (2010)
4. 舘野 高, "中脳ドーパミン細胞における形態発達の特徴と受動的膜モデルの一構成法", 電気学会誌 IEE Japan Transactions on Electronics, Information and Systems, Sec. C, 131 (1), 50–55, (2011)

(2)特許出願

研究期間累積件数: 国内 1 件、海外 1 件

発 明 者: 舘野 高

発明の名称: 電気生理測定装置及び方法

出 願 人: 大阪大学

出 願 日: 2010/2/17

PCT 出願番号: PCT/JP2011/052164

出 願 日: 2011/2/2

(3)その他(主要な学会発表、受賞、著作物等)

主要な学会発表:

国際

- T. Tateno, Firing-mode analysis of neurons in rat substantia nigra pars compacta using a conductance-injection method and conductance-based models, Abstracts of the 38th Annual Meeting of Society of Neuroscience, Washington D.C., November 18, 2008.
- T. Tateno, Analysis of an inhibitory and hyperpolarization-activated current (I_h) controlled switch between firing modes in dopaminergic neurons and inhibitory interneurons of rat substantia nigra and their computational modeling, Abstracts of the 39th Annual Meeting of Society of Neuroscience Chicago, 23 October, 2009.
- Y. Inui and T. Tateno, Computational modeling of molecular networks underlying postsynaptic plasticity in striatal medium spiny neurons, 7th Forum of European Neuroscience, Amsterdam, Netherlands, July 5th, 2010, p. 296 in FENS Forum Abstracts.
- T. Tateno, Analysis of ethanol effects on hyperpolarization-activated cation current in rat dopamine neurons and its influence to midbrain local circuits, Abstracts of the 40th Annual Meeting of Society of Neuroscience, San Diego, 13 November, 2010.

国内

- T. Tateno, Analysis of an inhibitory and hyperpolarization-activated current (I_h) controlled switch between single-spiking and burst firing modes in dopaminergic neurons of rat substantia nigra pars compacta, the 32 Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Neuroscience 2009), Nagoya, Japan, 16 September, 2009
- R. Iwahashi and T. Tateno, Firing-mode analysis of neurons in rat substantia nigra pars compacta using a conductance-injection method, the 31st Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Neuroscience 2008), Tokyo, Japan, 11th July, 2008.

受賞:

Daiwa Adrian Prize 2010 (日英の各グループに属する他の9名との共同受賞).

著作物:

P. Zeberg et al., “Phase-resetting analysis of gamma-frequency synchronization of cortical fast-spiking interneurons using synaptic-like conductance injection”, in *Phase response curves in neuroscience: theory, experiment and analysis*, Eds. Schultheiss, Prinz, and Butera (in press).