

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：62603

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K00417

研究課題名(和文) グリア細胞・ニューロンネットワークの相互作用による脳内情報処理機構の数学的理解

研究課題名(英文) Mathematical Understanding of Information Processing Mechanism in the Brain by Interaction of Glial and Neuronal Networks

研究代表者

田村 義保 (Tamura, Yoshiyasu)

統計数理研究所・データ科学研究系・教授

研究者番号：60150033

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：脳幹内のアストロサイトは、ニューロンと協調しつつ呼吸リズム形成に関与していること及び脳内低酸素センサーとして低酸素呼吸応答機構において重要な役割を果たしていることが分かった。また、ニューロンネットワークモデルとアストロサイト振動子のモデルを疎に結合させたニューロン・アストロサイトネットワークのシミュレーションを行い、アストロサイトの呼吸リズム形成における役割を明かにした。

研究成果の概要(英文)：Astrocytes in the brain stem have an important role in respiratory rhythm formation in coordination with neurons. It was found that astrocytes play an important role in hypoxic respiratory response mechanism as hypoxic sensors in the brain. We developed a simulation model by coupling a neuronal network model and an astrocytic oscillator model. We attempted to reveal roles of astrocytes in respiratory rhythm formation by simulations.

研究分野：計算統計学

キーワード：アストロサイト カルシウムイメージング 呼吸リズム

### 1. 研究開始当初の背景

脳機能はニューロンネットワークの活動パターンで決定され、その際、グリア細胞はニューロン周囲の環境を維持する程度の副次的な役割しか果たしていないと考えられている。実際、多くの神経科学の教科書には今でもそのようなニューロン中心主義(ニューロドクトリン)に基づく記載がなされている。アストロサイトは様々な脳領域においてカルシウム依存性機構によって神経活動を修飾していると考えられているが、呼吸リズム生成機構の中核を担う pre-Botzinger complex (preBotC) のアストロサイトが呼吸リズム形成においてどのような役割をしているかは明らかではなかった。

### 2. 研究の目的

脳内には極めて多数の神経細胞(ニューロン)とグリア細胞とが存在しており、従来、脳機能はシナプスで結合した多数のニューロンよりなるネットワークの活動として発現すると考えられていた。しかし、細胞内カルシウム濃度を可視化するカルシウムイメージング法の発達により、グリア細胞、なかでもアストロサイトは、ニューロンと協調して神経情報処理に積極的に関与し、脳機能の発現を担っていることが明らかにされつつある。アストロサイト同士は機能的に結合し、アストロサイトネットワークを形成しており、脳機能は、ニューロンとアストロサイトのネットワーク活動の機能的相関により発現すると言える。本研究は、呼吸調節機構をモデルとし、ニューロンネットワークとアストロサイトネットワークの機能的相関から脳の動作原理を数学的に理解しようとするものである。特に延髄のアストロサイトの呼吸リズム形成への関与を明らかにする。

### 3. 研究の方法

脳内のニューロンとアストロサイトのネットワーク活動の相互作用による脳機能の発現機構を解析する。対象としてニューロンとアストロサイトの相互作用が重要とされる呼吸リズム形成機構を取り上げる。ラット、マウスから作成した *in vitro* 脳幹脊髄標本を用い、呼吸リズム形成の中核とされる延髄 preBotC 領域からカルシウムイメージング法により数百個の細胞の活動を計測する。まず、計測された細胞をニューロンとアストロサイトに分類するプログラムを開発する。分類されたすべての細胞の活動の時系列データを、スパコン上で遺伝的アルゴリズムにより解析し、ニューロンおよびアストロサイトの各ネットワーク内部に存在する機能的アセンブリを同定する。各アセンブリの間の機能的連関を解析し、呼吸リズム形成機構をモデル化し、ニューロン・アストロサイトネットワークの相互作用による脳の動作原理を数学的に理解する。方法の主要部分を次の様にまとめておく。

(1)ニューロン アストロサイトネットワークのモデルを構築し、シミュレーションによ

ってアストロサイトが呼吸リズム形成においてどのような役割をしているかを検討する。

(2) *in vivo* の無麻酔覚醒下のマウスを対象にアストロサイト活性化阻害剤である arundic acid が、室内気呼吸時および低酸素負荷時の呼吸パラメーターに及ぼす影響を、脳波とともに、解析する。

(3) *in vitro* の新生ラット摘出脳幹脊髄標本において、カルシウムイメージング法を用い、呼吸中枢の脳細胞の活動について解析する。すなわち、呼吸リズム生成機構の中核である延髄 preBotC レベルでの標本断面での preBotC 領域内のニューロンおよびアストロサイトの活動を横隔神経に連なる頸髄前根(C4)からの呼吸神経の出力と同時に記録する。また、これらニューロンおよびアストロサイトの活動と C4 呼吸神経出力の低酸素負荷に対する応答を解析する。

### 4. 研究成果

(1) 2015 年には、Hodgkin-Huxley 型の周期性バースト発火する呼吸ニューロンと低周波振動する Rössler アトラクタ型のアストロサイトが相互に影響しあうモデルを用いたシミュレーション実験を行い、preBotC におけるニューロン・グリアネットワークは、弱く結合した振動子(loosely coupled oscillators)で表現される、との概念(仮説)を提唱した(Respir Physiol Neurobiol, 2015)。このモデルを大規模ニューロン・グリアネットワークへ拡張するにはニューロンネットワークのトポロジーを推定する必要があるため、まずネットワークが全体として同期して活動するのに最適のトポロジーは何かについてシミュレーション実験を行った。ニューロン要素としては、Buteraらが提示したペースメーカー特性を持つニューロンモデル model 1 (Purvis et al., J Neurophysiol 2007)を採用した。次に、興奮性ニューロンも抑制性ニューロンも、このニューロン要素から構成し、それらをシナプス結合割合 0.10~0.12 でランダムに結合させたネットワークを呼吸ニューロンネットワークモデルとして生成した。このモデルに対して、シナプス結合を効果的に変異(mutation)させて、ネットワーク全体の同期性が高まる方向にシナプス結合を変化させるアルゴリズム(evolutionary algorithm)を適用した。その結果、ネットワーク全体の同期性が高まるよう「進化」したネットワークのシナプス結合は、大多数のニューロンは少しのシナプス結合しか持たず、少数のニューロンが多くのシナプス結合を有する偏った分布を示した(Fig. 1)。

また、抑制性のニューロンは、主として自発的にバースト発火するコア領域のニューロンを介して、興奮性ニューロンの異所性発火(ectopic firing)を抑制するような役割を示した。

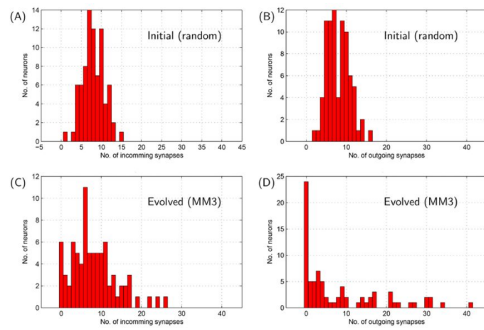


Fig. 1 「進化」前のランダム結合したネットワークの後シナプスニューロンのシナプス数 (No. of incoming synapses) 分布 (A) と前シナプスニューロンのシナプス数 (No. of outgoing synapses) 分布 (B)、進化後のネットワークの後シナプスニューロンのシナプス数分布 (C) と前シナプスニューロンのシナプス数分布 (D)。

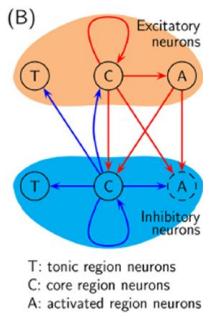


Fig2. 代表的な周期活動するネットワークのトポロジー

ネットワーク全体の同期性が高まるよう進化したネットワークのトポロジーに共通する点として、多くの軸索投射を受けるニューロンは、多くのニューロンに軸索投射するニューロンからシナプス入力を受けており、シナプス入力を遮断した状態での発火特性でニューロンを持続発火型(T)、バースト発火型(C)、被活性化型(A)に分類すると、ニューロングループ間で Figure 2 のような代表的な結合パターンがみられた。

(2) ニューラルマスモデル (Neural mass model) を用いた呼吸ニューロンネットワークによって、光遺伝子導入によりグリシン性抑制性ニューロンのみを選択的に刺激した時に起こる呼吸リズムのリセットをシミュレーションできるかどうかを検討した。呼吸ニューロンネットワークは、3つの抑制性ニューロンと2つの興奮性ニューロンによって構成し、spike triggered averaging 法によって同定されたシナプス結合に基づいたネットワークトポロジーを仮定した (Fig. 3)。このモデルによると、I-DEC ニューロンのみの刺激では、Sherman (2015)らの preBotC のグリシン性抑制性ニューロンを刺激した実験データを再現することはできず、Botzinger complex (BotC)の E-DEC と E-AUG ニューロンも同時に刺激されると仮定してはじめて実験データの再現が可能であった。この結果は、E-DEC や E-AUG の局在が preBotC にもおよぶ可能性や、preBotC 内の E-DEC や E-AUG の軸索を刺激した可能性を示

唆している。

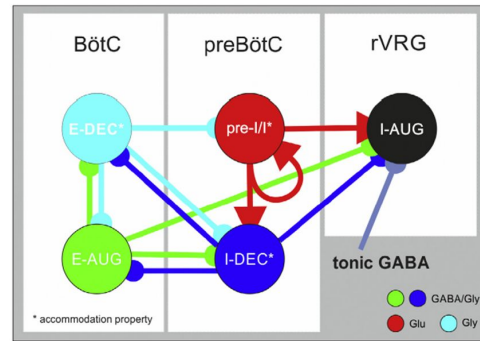


Fig. 3 呼吸ニューロンネットワークのニューラルマスモデル。

(3) *in vivo* 実験では、酸素濃度が7%以上の比較的マイルドな低酸素の負荷は呼吸増強性に作用したが、アストロサイト活性化阻害剤である arundic acid は、低酸素性呼吸増強を抑制した。一方、酸素濃度が6%以下の比較的高度の低酸素の負荷は、一過性の低酸素性呼吸増強の後、低酸素性呼吸抑制や痙攣を惹起した。そして、痙攣後には、さらに呼吸抑制、無呼吸が起き、呼吸停止に至る例も認められた。この比較的高度の低酸素負荷時には、arundic acid は、痙攣、痙攣後呼吸抑制、無呼吸・呼吸停止の発現を予防する効果を示した。

(4) *in vitro* の新生ラット摘出脳幹脊髓標本におけるカルシウムイメージング実験では、preBotC 領域内の細胞については、ニューロンのみでなく、アストロサイトについても、C4 呼吸神経出力と同期した活動を呈するものが認められた。また、preBotC 領域内の一部のニューロンおよびアストロサイトは、C4 呼吸神経出力とともに、低酸素負荷に対し、興奮性の応答を呈した。preBotC 領域内のアストロサイトの低酸素による興奮性応答は、テトロドトキシンでニューロン活動を抑えた条件下でも認められたため、内因性のもと考えられた。

(5) 以上のことより、脳幹内のアストロサイトは、ニューロンと協調しつつ呼吸リズム形成に関与しており、また、脳内低酸素センサーとして低酸素呼吸応答機構において重要な役割を果たしていると考えられた。一方、大脳のアストロサイトは、高度の低酸素の負荷時には、興奮性が亢進し、生体に痙攣および痙攣後呼吸抑制を起こしうると考えられた。したがって、アストロサイト活性化阻害剤は、高度の低酸素の負荷時に見られる痙攣を予防する抗てんかん剤として活用しうることが示唆された。

Reference:

1. Purvis LK, Smith JC, Koizumi H, Butera RJ. Intrinsic bursters increase the robustness of rhythm generation in an excitatory network. Journal of

Neurophysiology. 2007; 97(2):1515-1526.  
2. Manninen T, Havela R and Linne M-L (2018) Computational Models for Calcium-Mediated Astrocyte Functions. Front. Comput. Neurosci. 12:14.

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 15 件)

H. Konno and Y. Tamura, Approximate time-dependent solution of a master equation with full linear birth-death rates, Journal of Physics Communications, 査読有, 10.1088/2399-6528/aaae13, 2018,  
Atsumi Saito, Kazuya Miyagawa, Hiroko Miyagishi, Kazuhiro Kurokawa, Akira Umeda, Yasumasa Okada, Minoru Tsuji, Hiroshi Takeda, Possible involvement of monoamine neurons in the emotional abnormality in Kir6.2-deficient mice. Physiology & Behavior, 査読有, 188: 251-261  
10.1016/j.physbeh.2018.02.014

T. Takai, Y. Tamura and H. Motoyama, A new graphical approach to classify spatial point patterns on hierarchical cluster analysis, Journal of Japanese Society of Computational Statistics, 査読有, Vol.30, No. 1, 1-14, 2017.

Ikeda K, Kawakami K, Onimaru H, Okada Y, Yokota S, Koshiya N, Oku Y, Iizuka M, Koizumi H, The respiratory control mechanisms in the brainstem and spinal cord: integrative views of the neuroanatomy and neurophysiology. Journal of Physiological Sciences, 査読有, 67(1):45-62. 10.1007/s12576-016-0475-y, 2017.

Oku Y, Hulsmann S. A computational model of the respiratory network challenged and optimized by data from optogenetic manipulation of glycinergic neurons. Neuroscience, 査読有, 2017; 347:111-122. doi: 10.1016/j.neuroscience.2017.01.041. Epub 2017 Feb 13.

Pokorski M, Takeda K, Okada Y. Oxygen sensing mechanisms: a physiological penumbra. Advances in Experimental Medicine and Biology, 査読有, 952:1-8, 2016.

Terada J, Fukushi I, Takeda K, Hasebe Y, Pokorski M, Tatsumi K, Okada Y, Disharmony between wake- and respiration-promoting activities: Effects of modafinil on ventilatory control in rodents. Respiratory Research, 査読有, 17(1):148, 2016.

Takeda K, Pokorski M, Sato Y, Oyamada

Y. Okada Y, Respiratory toxicity of dimethyl sulfoxide. Advances in Experimental Medicine and Biology, 査読有, 885: 89-96, 2016.

Lal A, Oku Y, Someya H, Miwakeichi F, Tamura Y. Emergent network topology within the respiratory rhythm-generating kernel evolved in silico. PLoS One. 査読有, 1(5): e0154049. doi:10.1371/journal.pone.0154049. eCollection 2016.

Fukushi I, Takeda K, Yokota S, Hasebe Y, Sato Y, Pokorski M, Horiuchi J, Okada Y. Effects of arundic acid, an astrocytic modulator, on the cerebral and respiratory functions in severe hypoxia. Respiratory Physiology and Neurobiology, 査読有, 226:24-29. 10.1016/j.resp.2015.11.011, 2015

[学会発表](計 40 件)

Okada Y, Yazawa I, Okazaki S, Yokota S, Takeda K, Someya H, Tamura Y, Onimaru H. Detection of respiratory modulated astrocytes in the ventrolateral medulla of the isolated brainstem-spinal cord by confocal calcium imaging. Annual Meeting of the Society for Neuroscience (Neuroscience2017) November 11-15, 2017, Washington, DC, USA.

Oke Y, Miwakeichi F, Oku Y, Besser S, Hirrlinger J, Hülsmann S. General pattern of activation sequence among excitatory/inhibitory inspiratory neurons during rhythmic burst in the pre-Bötzinger complex of the mice medulla slice. XIV Oxford Conference on Modelling and Control of Breathing, Oxford, UK, 2017.9.17-21.

Hasebe Y, Sugama S, Takeda K, Koizumi K, Fukushi I, Hoshiai M, Kakinuma Y, Horiuchi J, Sugita K, Okada Y. Persistence of post-stress blood pressure elevation is induced by activated astrocytes. Neuroscience 2016, 46th Society for Neuroscience Annual Meeting, November 12-16, 2016. San Diego Convention Center, San Diego, USA.

Okada Y, Yokota S, Shinozaki Y, Yasui Y. Anatomical arrangement of neurons and astrocytes in the phrenic nucleus of the rat. Neuroscience 2016, 46th Society for Neuroscience Annual Meeting, November 12-16, 2016. San Diego Convention Center, San Diego, USA.

Pokorski M, Takeda K, Okada Y, Hypoxia ventilatory mechanisms: Appraisal and reappraisal. The International Biophysical Medicine Symposium; IX International Symposium "Actual Problems of Biophysical Medicine", May 12-15, 2016,

Kiev, Ukraine.

Yokota S, Okada Y, Oka T, Asano H, Yasui Y, Orexinergic fibers are in contact with Kölliker-Fuse neurons projecting to the rostral ventral respiratory group and phrenic and hypoglossal nuclei in the rat. Neuroscience 2015, 45th Society for Neuroscience Annual Meeting, October 17-21, 2015. McCormick Place, Chicago, USA.

Okada Y, Oku Y, Sasaki T, Vivar C, Yokota S, Takeda K, Fukushi I, Yazawa I, Someya H, Tamura Y. A novel model of respiratory rhythm generation: a mechanism by interaction of intrinsically oscillating astrocytes and neurons. Neuroscience 2015, 45th Society for Neuroscience Annual Meeting, October 17-21, 2015. McCormick Place, Chicago, USA.

Fukushi I, Takeda K, Hasebe Y, Horiuchi J, Okada Y. Maintenance of ventilation under a hypoxic condition requires activated astrocytes. The International Society for Autonomic Neuroscience (ISAN) 2015 Meeting, Stresa, Italy, from the 26th - 29th September, 2015.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

田村義保 (Tamura Yoshiyasu)  
統計数理研究所・データ科学研究系・教授  
研究者番号：60150033

### (2) 研究分担者

染谷博司 (Someya Hiroshi)  
東海大学・情報理工学部・准教授  
研究者番号：00333518  
越久仁敬 (Oku Yoshitaka)  
兵庫医科大学・医学部・教授  
研究者番号：20252512  
岡田泰昌 (Okada Yasumasa)  
独立行政法人国立病院機構村山医療  
センター(臨床研究部)・  
電気生理学研究室・室長  
研究者番号：80160688

### (3) 連携研究者

無し

### (4) 研究協力者

無し