

平成 21 年 5 月 18 日 現在

研究種目：基盤研究（B）  
 研究期間：2005 ～ 2008  
 課題番号：17300096  
 研究課題名（和文） 樹状突起膜と細胞外電場の相互作用による神経情報処理の実験的解明と数理モデル構築 研究課題名（英文） Neural information processing by interaction of the dendritic membrane and extracellular electric fields: Experimental studies and construction of mathematical models.  
 研究代表者  
 宮川 博義 (MIYAKAWA HIROYOSHI)  
 東京薬科大学・生命科学部・教授  
 研究者番号：90166124

## 研究成果の概要：

電位イメージング法により細胞外電場に対する海馬ニューロンの応答を実験的に検討し、①活動電位の発生部位が直流電場によって移動すること、②直流電場に対する応答が I<sub>h</sub> チャンネルには本質的に依存しないが、③リークチャンネル、TRP チャンネルを修飾する条件下では変化することを見出した。④コンピュータシミュレーションにより、直流電場に対する応答の決定要因の一つが樹状突起端の膜抵抗にあることを示した。⑤樹状突起をケーブルとみなし、細胞外電場に対する応答をケーブル方程式の解析解として理論的に求める方法を開発した。その結果、一端にリークのあるケーブルでは周期的細胞外電位に対して周波数選好性のみられること、さらに⑥非リーク端における電位変化の振幅が増大することを見出した。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	4,400,000	0	4,400,000
2006年度	3,900,000	0	3,900,000
2007年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
2008年度	3,200,000	960,000	4,160,000
年度			
総計	15,400,000	2,130,000	17,530,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生体生命情報学

キーワード：細胞外電場、電位イメージング、電位非依存性イオンチャンネル、EPSP、数理モデル

## 1. 研究開始当初の背景

脳波は古くからニューロンの活動を反映する現象として研究され、様々な高次神経活動との対応関係が知られている。たとえば人では活発な精神活動中にはβ波が、瞑想時にはα波が発生し、ラットの海馬では探索行動中にθ波が観察される。θ波発生時にラ

ット海馬 CA1 野では 40mV/mm にも達する大きな細胞外電位勾配が発生することが報告されている (図 1)。脳波は、ニューロン活動の結果であると同時に、その電位変動の中にあるニューロンの活動を調節する機能を持つ可能性が考えられる。

## 2. 研究の目的

ニューロン間の相互作用の最も重要な機構はシナプス伝達であると考えられているが、神経回路にはシナプス伝達だけでは説明の困難な現象がある。先行研究において我々は、シナプス伝達に加えて、ニューロン間には細胞外電位の勾配と樹状突起の膜特性を媒介にした非シナプスの相互作用が存在するとの仮説を示唆する実験的結果を得た。本研究の目的はこの新たな仮説を実験的に検証し、数理モデルとして記述することであった。

### 3. 研究の方法

(1)海馬脳スライス標本に電場刺激を与え、ニューロンの膜電位変動を高速電位イメージング法及び古典的電気生理学的手法（ホールセル記録法）によって観察した。

- ① 第1段階として直流電場に対する応答を検討した。膜電位変化の時空間分布を解析することによって樹状突起におけるイオンチャネルの分布が推定できると予想した。
- ② 第2段階では交流電場に対する応答を検討した。交流電場に対して膜電位は周波数に依存した応答を示すと予想した。第2段階ではさらにシナプス応答が細胞外電場負荷によってどのように変化するかを検討した。

(2) 実験的研究と平行して理論的研究を行い、海馬ニューロンの数理モデルを構築した。この計算にはコンパートメントモデルシミュレーターの NEURON (アメリカ合衆国 Yale 大学 Hines 氏作成) を用いた。海馬ニューロンの形態の情報は英国 Southampton 大学のデータベースに公開されているものを使用した。当初の計画にはなかったが、研究の進展に伴い、理論的解釈が必要となり、細胞外空間を考慮に入れたケーブル方程式を考え、解析解を求める一般的方法を開発し、得られた方法を用いて細胞外電場に対する応答を解析した。

### 4. 研究成果

(1)実験的研究1:

ラット海馬スライス標本内のCA1領域の錐体細胞樹状突起の走行に平行及び垂直に直流電場を負荷し、膜電位イメージング法を用いて膜電位変化を記録した。電場刺激下に閾値レベルのシナプス刺激を加え、誘起される膜電位変化が電場刺激の強度にどのように依存するかを検討した。その結果、活動電

位の発生部位が電場刺激の条件によって移動することを確認することができた。意外なことに後シナプス電位の振幅には顕著な影響は見られなかった。この成果は、細胞外電場がニューロンの出力を修飾しうることを示している。検討した電場強度は生理的条件下にニューロンが曝されるよりも強いものであったので、今後、個々のニューロンの活動を多細胞同時に検出する手法を開発し、より弱い電場に対する応答を検討する。

(2) 実験的研究2:ラット海馬スライス標本内のCA1領域の錐体細胞樹状突起の走行に平行及び垂直に交流電場を負荷し、膜電位感受性色素を用いて膜電位変化を光学的に観察した。その結果、樹状突起先端部において、膜電位変動の振幅が4-10Hzにおいて最大となる周波数選好性を発見した。ホールセル記録法によって単一錐体細胞の細胞体および樹状突起から記録した電位変化と比較したところ、細胞あるいは条件によって応答が異なっていた。周波数選好性が見られた周波数は海馬脳波の $\theta$ 波に近いものであり、海馬ニューロンが $\theta$ 波付近の細胞外交流電場に対して高い感受性を有する可能性が考えられる。あるいは反対に、この特性が $\theta$ 波発生にかかわっている可能性が考えられる。

(3)理論的研究1:細胞外直流電場に対する応答を決定する要因を検討するため、予備的研究において樹状突起を単純ケーブルとみなしてコンパートメントモデルを構築し、電場に対する応答を検討した。その結果、一端の膜抵抗が低いケーブルは細胞外電場に対して、実験結果と定性的に極めてよく似た振る舞いをするのがわかった。そこで、より詳細に検討するため、実際の海馬CA1錐体細胞の形態を持つコンパートメントモデルを構築し、電場に対する応答を検討した。その結果、実際のニューロンの形態であっても、樹状突起先端部の膜抵抗を低く設定することによって実験結果を再現可能なことを見出した。樹状突起先端部の電気的特性を古典的な電気生理学的手法によって実験的に研究することは困難であるが、我々は電位イメージングと数理モデルによる解析を組み合わせることにより、樹状突起先端部の膜特性の一端を解明することができた。

(4) 実験的研究3:理論的研究により樹状突起先端部の膜抵抗が低いという可能性を得たので、その原因を電位非依存性イオンチャネルに求め、リークチャネル、TRPチャネル等の関与を検討した。その結果、NaチャネルやCaチャネルなどの内向き電流をもたらすイオンチャネルの寄与はほとんど見られず、ある種のKイオンチャネルのブロッカー、温

度、麻酔薬、亜鉛イオン等が電場に対する応答に変化をもたらすことを見出した。リークチャンネル、TRPチャンネル等については選択的で強力なブロッカー等が乏しく、今だ、どのイオンチャンネルが低膜抵抗に寄与しているかを決定するに至っていないが、上記の結果は、これらのチャンネルの関与を「状況証拠」的に示唆している。これらのチャンネルは感覚受容細胞において情報の検出に重要な役割を果たしていることから、ニューロンが電場を検出することに関与している可能性に期待が持たれる。

(5) 理論的研究2：研究当初は細胞外直流電場に対する応答をコンパートメントモデルを用いて解析し、ケーブルの一端あるいは樹状突起先端部の膜抵抗が応答の性格を決定しうることを示した。しかしながら、数値解析ではその原因の本質的な理解に結びつかないため、解析的な解釈を求め、単純ケーブルに細胞外電場を負荷した際の応答をケーブル方程式として表現し、その解を解析的に求める方法を開発した。膜抵抗が均一なケーブルばかりでなく、一端にリークを持つケーブルについてもグリーン関数を求め、それを用いて解析解を得ることに成功した。その結果、電場に対する応答は、細胞外空間と細胞内空間とを合成した等価ケーブルにおいて両端に電流注入を行ったと考えることにより理解可能であることが明らかとなった。この成果は、電場に対するケーブルの振る舞いを定性的に理解する事を極めて容易にするものであり、神経回路網と電場との関わりを研究する上で、極めて大きな意義を持つと考えている。

(6) 理論的研究3：上記、理論的研究3で開発したグリーン関数は任意の時間経過の電場に応用可能であるので、交流の細胞外電場に対するケーブルの応答を解析的に検討した。その結果、一端にリークのあるケーブルでは周期的細胞外電位に対して周波数選好性のみられることを見出した。実験的研究では、電位イメージングによって、このことが事実であることを示唆する実験結果を得ているが、古典的電気生理学的測定（ホールセル記録法）では矛盾する結果を得ており、今後の実験的検証が必要な状況にある。

また、この理論的解析によれば、リークを一端に持つケーブルでは、逆端における電位変化の振幅が増大する。このことについても、今後、実験的検証が必要であるが、もし、事実であれば極めて興味深い。すなわち、樹状突起は先端の抵抗を低くすることによって細胞外電場に対する感受性を高めているという可能性が考えられるからである。

## 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 9 件)

- ① Omori, T., Aonishi, T., Miyakawa, H., Inoue, M., and Okada, M. Steep decrease in the specific membrane resistance in the apical dendrites of hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Neuroscience Research* **64** 83-95 (2009) 査読有り
- ② Monai, H., Omori, T., Okada, M., Inoue, M., Miyakawa, H., and Aonishi, T. Mathematical analysis on dynamical behavior of a cylindrical cable induced by extracellular electrical field II. *信学技報*. **108** 81-86 (2009) 査読なし
- ③ 大森敏明, 青西亨, 宮川博義, 井上雅司, 岡田真人 細胞の摂動応答を用いた樹状突起先端部における膜比抵抗の推定 *電子情報通信学会技術研究報告* **106**(588): 25-30; 2007. 査読なし
- ④ 毛内拓, 青西亨, 井上雅司, 宮川博義 細胞外電場負荷時のシリンダーケーブルの振る舞いの数理解析. *電子情報通信学会技術研究報告* **107**(542): 157-162; 2007. 査読なし
- ⑤ Omori, T., Aonishi, T., Miyakawa, H., Inoue, M., and Okada, M. Estimated distribution of specific membrane resistance in hippocampal CA1 pyramidal neuron. *Brain Research* **1125**, 199-208 (2006) 査読有り
- ⑥ 大和卓人, 井上雅司, 工藤佳久, 宮川博義, 細胞外電場負荷によって錐体細胞樹状突起に誘起される電流応答のコンパートメントモデルによる解析, *電子情報通信学会技術研究報告* 104(759), 13-18 (2005). 査読なし
- ⑦ 粕谷奉幸, 工藤佳久, 宮川博義, 井上雅司, 海馬スライスにおける膜電位振動 (2-7Hz) の膜電位イメージング法による時空解析, *電子情報通信学会技術研究報告* 104(759), 25-30 (2005). 査読

なし

- ⑧ 青西亨、宮川博義、井上 雅司、岡田真人、細胞の動態から回路網の動態へ—NEURONシミュレータによる仮想生理実験—、電子情報通信学会技術研究報告 104(759), 49-54 (2005). 査読なし
- ⑨ 大森敏明、青西亨、宮川博義、井上 雅司、岡田真人、海馬 CA1 錐体細胞の膜抵抗分布の推定、電子情報通信学会技術研究報告 104(473), 7-12 (2004). 査読なし

[学会発表] (計 13 件)

- ① Monai, H., Aonishi, T., Omori, T., Inoue, M., Okada, M., Miyakawa, H. Mathematical analysis on dynamical behavior of a cylindrical cable induced by extracellular electrical field. Neuroscience2008 2008/11/15-19 Washington, DC. U. S. A.
- ② 毛内 拓、青西亨、大森敏明、岡田真人、井上雅司、宮川博義 細胞外電場負荷に対するシリンダーケーブルの膜電位変化の数理解析 第31回日本神経科学大会2008/7/9 東京
- ③ 毛内 拓、青西亨、井上雅司、宮川博義 細胞外電場負荷時のシリンダーケーブルの振る舞いの数理解析 電子情報通信学会、ニューロコンピューティング研究会、2008/3/12 東京
- ④ 角田敬正、大田桂輔、渡部重夫、宮川博義、青西亨 ダイナミック・クランプを実現するリアルタイム計測・制御システムの構築 電子情報通信学会、ニューロコンピューティング研究会、2008/3/12 東京
- ⑤ Omori, T., Aonishi, T., Miyakawa, H., Inoue, M., and Okada, M., Steep decrease of membrane resistance in distal dendrite of hippocampal CA1 pyramidal neuron. Annual Meeting of Society for Neuroscience, 2006/10/14-18 Georgia, Atlanta.
- ⑥ Shimizu, Y., Miyakawa, H., and Inoue, M., Frequency preference of apical dendrites in response to sinusoidal

electric field. The 29th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, 2006/7/18-21 Kyoto.

- ⑦ Omori, T., Aonishi, T., Miyakawa, H., Inoue, M., and Okada, M., Non-Uniform Passive Membrane Property in Dendrite Estimated by Fitting Multi-Compartment Model to Voltage Imaging Data. Computational and Systems Neuroscience, 2006/3/5-8 Salt Lake City.
- ⑧ 大森敏明、青西亨、宮川博義、井上 雅司、岡田真人、海馬 CA1 錐体細胞の膜抵抗分布の推定、日本神経回路学会第 14 回全国大会、京都大学、2004/9/27-29
- ⑨ 大森敏明、青西亨、宮川博義、井上 雅司、岡田真人、海馬 CA1 錐体細胞の膜抵抗分布の推定、日本物理学会 2004 年秋季大会、青森大学、2004/9/22-24
- ⑩ 秋山博紀、鈴木崇之、岡野祥子、工藤佳久、宮川博義、井上雅司、海馬 CA1 領域における細胞外電場に対する応答特性への  $I_h$  の寄与は小さい 日本神経科学会大会、大阪国際会議場、2004/9/21-23
- ⑪ Inoue, M., Miyakawa, H., "Are distal dendrites 'leaky'? Voltage imaging reveals unique spatiotemporal responses to DC fields in hippocampal slices" Spring Hippocampal Research Conference, 2004/5/1-8 Grand Cayman BWI.
- ⑫ 大和卓人、井上雅司、工藤佳久、宮川博義、細胞外電場負荷によって錐体細胞樹状突起に誘起される電流応答のコンパートメントモデルによる解析、電子情報通信学会 ニューロコンピューティング研究会、玉川大学工学部 2004/3/28-30
- ⑬ 粕谷奉幸、工藤佳久、宮川博義、井上雅司、膜電位イメージング法を用いたラット海馬スライスにおける膜電位振動 (2-7 Hz) の解析、電子情報通信学会 ニューロコンピューティング研究会、玉川大学工学部 2004/3/28-30

[図書] (計 2 件)

- ① 宮川博義、井上雅司、秋山博紀、大森衣里子、「ニューロンの樹状突起先端部の

膜抵抗」日本生物物理学会 生物物理  
44 (通巻254号) 166-171 (2004)

- ② 井上雅司、大森敏明、「細胞の摂動応答の光計測とシミュレーションによる膜特性の推定」日本シミュレーション学会シミュレーション25、13-19 (2006)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

宮川 博義 (MIYAKAWA HIROYOSHI)  
東京薬科大学・生命科学部・教授  
研究者番号：90166124

### (2) 研究分担者

井上 雅司 (INOUE MASASHI)  
東京薬科大学・生命科学部・講師  
研究者番号：30339098

### (3) 連携研究者

大森 敏明 (OHMORI TOSHIAKI)  
理化学研究所・脳科学総合研究センター・脳数理研究チーム・研究員  
研究者番号：10391898