様　式　C－19、F－19－1、Z－19　(共通)

科研費 KAKENHI

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　６ 年　 ５ 月 ３１ 日現在

機関番号：１２６０１
研究種目：挑戦的研究（萌芽）
研究期間：2021～2023
課題番号：２１Ｋ１８５９６

研究課題名（和文）神経細胞は高分子液晶か？

研究課題名（英文）Are nerve cells polymer liquid crystals?

研究代表者
柳澤　実穂（Yanagisawa, Miho）

東京大学・大学院総合文化研究科・准教授

研究者番号：５０５５５８０２

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　4,900,000円

研究成果の概要（和文）：神経細胞の中央にあるニューロフィラメントは、配向した棒状高分子の束であり、それを覆う細胞の膜も高分子液晶と類似しています。これまでに神経伝達する波を、細胞を伝搬する機械的波とみなす説が提唱されてきましたが実証されていません。我々はこの波が高分子の配向波であると考え、偏光顕微鏡下での光学異方性と電場印加によるその時空間変化を解析することで、神経細胞が高分子液晶であるかを調べました。神経細胞全体がもつ高分子液晶的な光学異方性は確認できたものの、電場印可に伴う細胞の変形により、光学特性の時空間変化を捉えることはできませんでした。今後はこの変形を抑えることで、本検証を完了したいと考えています。

研究成果の学術的意義や社会的意義
神経伝達は通常、電気的パルスが担うとされています。これに対して、細胞を伝搬する機械的波が神経伝達を担うとするニューロン表面波仮説が提案されてきましたが実証されていません。本研究により、本仮説の鍵となる神経細胞全体の高分子液晶性を示す光学異方性が確認されました。電場印可によるこの光学異方性の時空間変化は捉えられませんでしたが、配向波伝播の可能性は残されています。本研究成果は、神経細胞の物理的理解や、麻酔などの医薬品開発に対し、有用な知見となると考えられます。

研究成果の概要（英文）：There is a theory that the waves that travel through nerves are soliton waves that travel through membranes. We hypothesized that the entire nerve cell behaves like polymer liquid crystals and that the orientation waves propagate soliton-like. We analyzed the optical anisotropy of squid nerve cells and the changes caused by applying an electric field to investigate whether nerve cells are polymer liquid crystals. Although optical anisotropy was observed, no change caused by electric field was observed. In the future, we would like to try to observe spatiotemporal changes by improving the observation cell.

研究分野：ソフトマター物理

キーワード：高分子液晶　配向

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

１．研究開始当初の背景

神経細胞は、我々の意識の源といえる存在であり、その物理的理解は生命科学から情報学まで多大な波及効果を持つことは間違いないでしょう。神経細胞は、情報を伝達する機能に特殊化した細胞で、細胞体から伸びた長い軸索と複数に分岐した樹状突起から構成されています。軸索は、他の細胞へ情報を伝達する出力元として、樹状突起は他の細胞から情報を受け取る入力元として機能しています。

従来、神経細胞は電位パルスによる情報伝達の機能を持つ以外は、他の細胞と類似した性質を有すると考えられてきましたが、実は高分子液晶のような性質を示すことが分かってきました。例えば、電位パルスの伝搬経路となる軸索中央部に位置する中間径フィラメント：ニューロフィラメントは、配向した棒状高分子の束と捉えられます。またそれを覆う多層の脂質膜構造は、強誘電性の高分子液晶と類似しています（Kundu, et al., 2015, Physical Chemistry Chemical Physics, 17:17699）。さらに神経伝達時には、等温にも関わらず、光散乱強度や膜厚の変化、複屈折や発熱吸熱が生じることも古くから知られています（Tasaki, et al., 1989, Biophysical journal, 55:1033）。これらは、電位パルス発生に伴う副反応とされてきましたが、神経細胞が高分子液晶であれば液晶転移に伴う現象とも考えられます。

神経細胞の一番の謎は、その情報伝達（波の伝搬）の速さです。近年、神経伝達を担う波が、細胞膜を伝搬するソリトン波であるというニューロン表面波伝播説が提唱されています（Heimburg & Jackson, 2005 PNAS, 102:9790, ほか)。例えば、ミミズではソリトン波的な表面波の伝播が報告されています（Maksymov & Pototsky, 2020, Sci. Rep., 10:8564）。このように、本仮説は論争の最中にありますが、疑２次元空間に拘束された棒状高分子液晶では、電場印可により生じる配向波がソリトン的に伝搬することが報告されました（Aya & Araoka, 2020 Nat. Commun., 11:3248）。これより我々は、神経細胞全体が高分子液晶であり、高分子の配向波が表面波となって神経細胞に沿って高速伝播する仮説を着想しました。

上記のように神経細胞を高分子液晶と示唆するデータは多数あるものの、神経細胞において膜などの高分子配向波がソリトン波的な伝播をするといった報告はありません。しかし、細胞膜の弾性や流動性の特性を利用して情報を伝える機械的波が、神経伝達へ寄与していることが明らかとなれば、神経伝達のスピードや効率性を説明する新しい視点を提供するはずです。また、電気信号に加えて、機械的な変化や分子の動きをも含むことで、神経伝達の多様性や複雑さをより包括的に理解できる可能性もあります。

２．研究の目的

上記の背景から本研究では、神経細胞は高分子液晶であり電場印可により高分子配向性が変化するか、という問いを検証する。そこで本研究では、「神経細胞の光学特性とその電場印可により変化の解析から、神経細胞が高分子液晶であるか」を問う。

３．研究の方法

高分子液晶とは、棒状高分子が特定方向に対して配向し、それにより屈折率等の光学特性や誘電率などの電気特性が、配向方向とその垂直方向に対して異方性を備えたものである。本研究ではまず、①偏光顕微鏡により神経細胞の高分子配向を直接観察する。その後、②神経細胞に電場印可し、高分子配向に由来する光学異方性が時空間変化するか否かを調べることにより、高分子液晶であるかを検証する。さらに、③印可電場の大きさや周波数を変化させることで、高分子配向の波が、神経細胞に沿って伝搬するか否かを検証する。

材料は、太く扱いやすい無髄神経をもつイカ（ヤリイカやスルメイカ）を対象とする。電場印可は、過去文献と同様にガラス電極を用いておこなう。また、神経細胞に含まれ、高分子配向を表す生体高分子を破壊、あるいは抽出・精製し、それを人工の神経細胞（細長いリポソーム）へ封入することで、細長い空間への束縛と界面効果により、神経細胞のような自発的な配向構造が復元されるか否かを検証する。

４．研究成果

・巨大神経線維の取り出し

生きたヤリイカやスルメイカを購入し、それを捌くことで神経細胞神経のうち内側にある、なるべく太い神経を採取して観察した。

・偏光顕微鏡による観察

イカの外筒にみられる複数の星状偏光顕微鏡で観察した。クロスニコル（CL）状態では内部の配向状態が明快に見られなかったこと

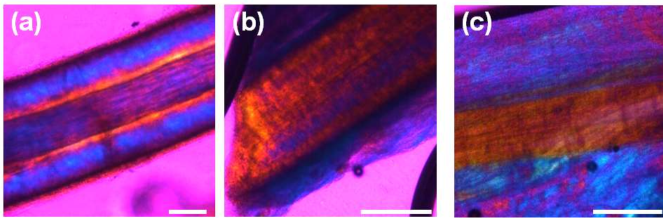

図 1．イカの神経細胞を相差 530nm の鋭敏色板を入れた偏光顕微鏡にて撮影した画像。(a, b, c)は異なる神経細胞である。スケールバーは 500 μm。

から、CL 状態へ相差 530nm の鋭敏色板をくわえて観察したところ、図１のような鮮やかな画像を得ることが出来た。神経線維の表面は青色となり、位相差が 530nm よりも大きくなる（正の伸長）一方、中央部は赤からオレンジとなり位相差が 530nm よりも小さくなる（負の伸長）ことが分かった。これは中央部では、繊維状の高分子が軸索に沿って配向している様子が観察された。この青く見える外側の筒はシュワン細胞であり、中央の赤くみえる部分が神経線維と考えられる。

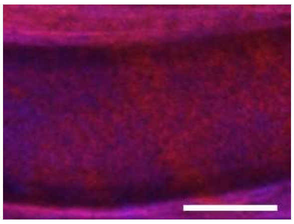

図 2. 冷凍した神経細胞の偏光顕微鏡画像。スケールバーは 500 μm。

・時間経過と冷凍の影響

鋭敏色板ありの状態で見られた鮮やかな画像は、神経細胞の冷凍や室温での保存により、次第に失われ、やがて図２のようになった。これは複屈折をもたらす繊維状高分子が崩壊したためと考えられる。実際に、図１では見られていた軸索部での繊維状構造は見られなかった。そこで以下の実験では、鋭敏色板存在下で図１のような２層構造が見られる神経細胞に対して実験を行った。

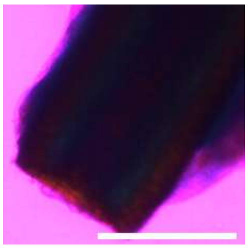

図 3. Triton X-100 を神経細胞へ添加し、20 分経過後の様子を撮影した偏光顕微鏡画像。スケールバーは 500 μm。

・偏光顕微鏡下での電場印加

神経細胞の軸索部へガラス電極を配置し、徐々に印加電場の大きさや周波数を変化させながら、偏光顕微鏡下での観察を行った。図１のような偏光顕微鏡画像から、明解な時空間変化は見られなかった。但し、電場印可により神経細胞が変形したり、水溶液中で動いたりすることにより、光学異方性の時空間変化を高い精度で撮影・解析することは出来なかった。

・シュワン細胞の剥離による軸索の取り出し

神経細胞全体では、電場印可に伴う光学異方性の時空間変化が見られなった。そこで、シュワン細胞を剥離し、繊維状の高分子が強く配向している軸索部のみを観察することで、電場印可に伴う僅かな複屈折の変化を捉えられるのではと考えた。細胞溶解に用いられる界面活性剤として Triton X-100 を神経細胞へ添加した後、20 分後の画像を図３に示す。表面にあった筒状の部分は期待通り剥がれていることは確認できたが、中央にある軸索のもつ偏光性も失われてしまった。Triton X-100 により軸索の構造も壊れてしまった可能性が高い。それゆえ、当初予定していた抽出・精製した線状高分子を人工の神経細胞へ封入する試みも実施できなかった。

５．まとめ

イカの神経細胞を採取し、それを偏光顕微鏡画像下で観察、電場印可することで、神経細胞が高分子液晶であるか否かの検証を行った。採取直後の神経細胞は、高分子液晶のように光学異方性をもち、またその複屈折はシュワン細胞と思われる細胞表面と軸索と思われる中央部で大きくことなることが確認できた。次に、この神経細胞へ電場印可し、電場の大きさと周波数を変化させつつ観察を行ったが、光学異方性の動的変化を捉えることはできなかった。問題点として、神経細胞は電場印可により変形したり水中で動いたりするため、光学異方性の時空間変化を高い分解能で撮影、解析することができなかったことが挙げられる。今後、この問題を解決するために、細長いマイクロ流路デバイスを設計し、その中に神経細胞を保持した状態で電場印可や偏光顕微鏡観察をすることを試みたい。また最後に、シュワン細胞の剥離により露出した軸索の実験も試みたが、界面活性剤を用いた採取は困難であることが分かった。これについては、顕微鏡下での軸索の取り出しを試みたい。

5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計0件

〔学会発表〕　計0件

〔図書〕　計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

－

6．研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考

7．科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕　計0件

8．本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関