Osaka University Knowledge Archive

Title	The Analysis of Autonomous Reconstruction of the Network of Cultured Neurons
Author(s)	清原, 藍
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58019
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【37】

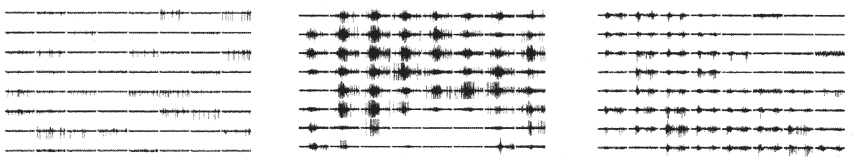
氏　　名	清　原　　藍（きよはら　あい）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学　位　記　番　号	第　２３５６７　号
学位授与年月日	平成22年３月23日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 理学研究科化学専攻
学　位　論　文　名	The Analysis of Autonomous Reconstruction of the Network of Cultured Neurons （海馬分散培養系における神経回路網再構成過程の解析）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　水谷　泰久 （副査） 教　授　渡會　　仁　　教　授　中村　春木 招へい教授　田口　隆久（大阪大学招へい教授、産業技術総合研究所　研究コーディネーター） 准教授　工藤　　卓（関西学院大学　理工学研究科）

論文内容の要旨

脳の高次機能は神経回路網を構成する神経細胞間のダイナミックな相互作用によるものであり，神経回路網電気活動のパターンと機能蛋白質分子の動態の相関性を解析することが重要である．この目的のためには，細胞外電位を多点で計測可能な、多数の微小平面電極を備えた培養皿に再構築した分散培養神経回路網が大変有効である．いくつかのグループで多点電極を用いたネットワークダイナミクスの解析が行われており，培養日数依存的に自発性神経活動電位の時間パターンが複雑化していくという結果が報告されている．本研究では，自発性神経活動電位の培養日数依存的な変化を長期間にわたって解析し、高頻度な一過性の電気活動 (HFB)が培養条件によらず比較的再現性よく発現すること，HFB収束後に，シナプス機能的結合の不均一さが増大する現象を発見した．このことは、自発的なバースト活動によってネットワーク編成が行われている可能性を示唆している．また，神経電気活動を担うシナプス伝達，活動電位発生機構には各種の機能的蛋白質が関わっており，これらの発現状態が神経回路網の動的特性に大きく影響すると考えられる．培養日数依存的な自発性活動電位パターンの変化を解析するとともに，これらの機能的蛋白質分子を薬理的に阻害することで，HFB活動を調整するメカニズムを考察した．その結果，HFBの発現は興奮性と抑制性の神経活動のバランスが興奮性に傾いたために引き起こされることが示唆された．さらに，HFB収束後の自発活動の頻度の変化と時空間パターンの修飾は興奮性シナプス活動の抑制によるものではなく，発現したグルタミン酸受容体の変化，神経回路網の機能的結合の再編成に引き起こされると考えられた．

また，HFB 収束後の成熟した神経回路網においては，電気刺激入力により誘発活動が引き起こされるだけでなく，ベースである自発性活動も影響を受け,神経回路網の内部状態を変更することが示唆された．これは，神経回路網の再編成に貢献すると考えられる．

このような電気的な活動調整の他に振動や浸透圧の変動により活動を調整する機構が存在し，培養系においては，浸透圧による変動が神経活動のダイナミクス解析を難しくする要因となっている．本系においても低浸透圧刺激によりアストロサイトから放出された ATP がニューロンの興奮伝達を抑制することが明らかになった．近年，ニューロン-アストロサイトによってシナプス伝達が調整される可能性が示唆されており，本系でも神経回路網再編成のプロセスにその関与を考慮するべきである．



培養 34 日目　　培養 37 日目　　培養 44 日目

図.自発性活動電位パターンの培養日数依存的変化

論文審査の結果の要旨

脳の高次機能は神経回路網を構成する神経細胞間のダイナミックな相互作用によるものであり、神経回路網電気活動のパターンと機能的蛋白質分子の動態の相関性を解析することが重要である。この目的のためには、細胞外電位を多点で計測可能な、多数の微小平面電極を備えた培養皿に再構築した分散培養神経回路網が大変有効である。いくつかのグループで多点電極を用いたネットワークダイナミクスの解析が行われており、培養日数依存的に自発性神経活動電位の時間パターンが複雑化していくという結果が報告されている。

本論文では、自発性神経活動電位の培養日数依存的な変化を長期間にわたって解析し、高頻度な一過性の電気活動（HFB）が培養条件によらず比較的再現性よく発現すること、HFB 収束後に、シナプス機能的結合の不均一さが増大する現象を発見した。このことは、自発的なバースト活動によってネットワーク編成が行われている可能性を示唆している。 また、神経電気活動を担うシナプス伝達、活動電位発生機構には各種の機能的蛋白質分子が関わっており、これらの発現状態が神経回路網の動的特性に大きく影響すると考えられる。

培養日数依存的な自発的活動電位パターンの変化を解析するとともに、これらの機能的蛋白質分子を薬理的に阻害することで、HFB活動を調整するメカニズムを考察した。その結果、HFBの発現は興奮性と抑制性の神経活動のバランスが興奮性に傾いたために引き起こされることを示唆する結果を得た。さらに、HFB収束後の自発活動の頻度の変化と時空間パターンの修飾は興奮性シナプス活動の抑制によるものではなく、発現したグルタミン酸受容体の変化、神経回路網の機能的結合の再編成に引き起こされることが明らかになった。

HFB収束後の成熟した神経回路網においては、電気刺激入力により誘発活動が引き起こされるだけでなく、神経活動のベースである自発性活動も影響を受け、神経回路網の内部状態を変更することが示唆された。これは、神経回路網の再編成に貢献すると考えられる。このような電気的な活動調整の他に振動や浸透圧の変動により活動を調整する機構が存在し、培養系においては、浸透圧による変動が神経活動のダイナミクス解析を難しくする要因となっている。本論文の系においても低浸透圧刺激によりアストロサイトから放出されたATPがニューロンの興奮伝達を抑制することが明らかになった。

本論文の研究成果は、自発性神経活動電位に新規な現象を発見し、その機構を明らかにしたものであり、生命現象を物理化学的および生化学的に解析した研究成果として意義深い。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。