

早稲田大学大学院 基幹理工学研究科

博士論文審査報告書

論文題目

オートプスを持つ神経細胞回路の形成とそのスパイク活動解析

Formation of neuronal circuits containing autapses and analysis of their spiking activity

申請者

服部 晃平

Kohei HATTORI

電子物理システム学専攻 分子ナノ工学研究

2024年2月

ニューラルネットワークをベースとする今日の人工知能は、脳機能解析とは独立して発展しつつも、生体神経細胞回路のダイナミクスから着想を得た仕組みを随所に取り入れて発展してきた。脳機能の理解を通して、それをシステムや素子に取り込むことができれば、人工知能のさらなる高機能化が期待される。一方、微細加工や表面改質技術の進展により神経細胞の成長に適した足場をガラス等の基板表面に形成できるようになり、生きた神経細胞どうしの接続制御、さらには、特定の接続構造を有する神経細胞回路の機能計測のための方法論も拡充されつつある。このような背景のもと、申請者は、神経細胞回路の機能理解に向けて、もっとも基本的な帰還接続に位置づけられるオータプスの機能に着目し、理論計算による機能予測と実験による検証を行った。本論文は、オータプスの機能解析のための数理モデルの改良および実験手法の構築について論じたものであり、全6章で構成されている。

1章「序論」では、実神経細胞による、①自発的な電位スパイクの発生（自発発火）、②多様な発火パターン生成、および、③複数の階層における信号の帰還と状態遷移を取り上げ、これらの機序理解に向けて、もっとも基本的な帰還接続と見なせるオータプスの機能を研究することの意義を述べている。

2章「神経細胞の膜電位変化を表現する数理モデル」では、神経細胞シミュレーションに汎用的に用いられる数理モデルの特徴をまとめ、3章から5章において採用するモデル、および、それを採用する判断基準をまとめている。

3章「オータプス培養した単一神経細胞の自発発火パターン計測とその数理モデル構築」では、オータプスをもつ単一神経細胞が多様な発火パターンを生成することを理論計算により予測し、その予測結果が実験により裏付けられることを論じている。以前より、孤立して成長した単一神経細胞がオータプスを持つ場合、異なる自発発火パターンを示す細胞が見つかることが報告されていた。一方、理論計算では、単純なモデルであっても、オータプスを持つ神経細胞がネットワーク全体のダイナミクスに無視できない影響（例えば同期性）を与えているとの予測もされていた。しかしながら、オータプス自体の機能に着目した研究例は少なく、オータプスによる多様な自発発火パターンの生成機序を説明する数理モデルはなかった。申請者は主要な2つのイオンチャネル型シナプス受容体（2-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazol-4-propanoic acid receptor (AMPA) 受容体、および、N-methyl-D-aspartate receptor (NMDA) 受容体）によるオータプス電流の時間変化に着目し、これら2つの受容体のバランスによってオータプスを持つ神経細胞の多様な自発発火パターンが説明できるとの仮説を立てた。そして、AMPA および NMDA オータプスを組み込んだ Hodgkin-Huxley モデルを構築し、そのモデルを用いて膜電位の時間変化を計算した。理論計算結果は、自発発火パターンが、①短いバースト発火、②長いバースト発火、または、③周期的バースト発火のいずれかに相当し、細胞外  $Mg^{2+}$  イオン濃度をパラメータとして、これらの発火パターンの違いが AMPA および NMDA コンダクタンスのバランスによるものであることを示した。特に特徴的な

発火パターンとして位置づけられる周期的バースト発火の発生機序を AMPA および NMDA コンダクタンスの時間変化によって説明できることを示すことによって、モデルの妥当性を理論的に示している。上記の理論計算結果を得たのち、申請者は、オータプスのみを持つ単一神経細胞をマイクロパターン上で孤立して成長させ、そのようにして成長した個々の単一神経細胞の自発発火をパッチクランプ法により計測した。実験結果はシミュレーション予測とよい一致を示し、観察される自発発火パターンが上記の3種類のいずれかになることを実験的にも示した。加えて、NMDA 受容体阻害薬の投与により人為的に NMDA オータプス電流を減少させても、シミュレーション結果が支持されることを論じている。これらの結果は申請者が立てた仮説の妥当性を示している。

4章「オータプス培養した単一神経細胞の刺激と応答」では、実神経細胞回路中の標的細胞のみに人為的に電気刺激を印加する方法論について論じている。従来のパッチクランプ法、多電極アレイ、光遺伝学を用いる刺激手法はいずれも、①刺激印加後の長期計測のための細胞への非侵襲性、②神経細胞回路中の特定の細胞のみを刺激できる照準精度、および、③電気刺激パターンの時間分解能に関する要求のすべてを満足できる性能を持たなかった。注目している神経細胞の発火が、刺激印加による直接的な発火であるか、または、上流の細胞の発火に伴う電位スパイクの伝搬によるものであるかを実験的に切り分けることの重要性から、上記の要求のすべてを満足する手法の必要性を唱えている。申請者は脳スライスの局所領域刺激や神経障害の治療に使用されてきた2針電極法のポテンシャルに着目し、上記①から③の要求に対するシミュレーション予測と実験的検証を行った。2つの針電極、電極/水溶液界面の電気二重層、溶液抵抗、および、2つのコンパートメントに分割した神経細胞を、汎用の回路シミュレータを用いて再現し、2つの針電極間に双極方形波を印加した場合の膜電位の時間変化を計算した。さらに、これにより得られた細胞外電位の時間変化を入力として、2コンパートメント Hodgkin-Huxley モデルを用いて、細胞膜電位の時間変化を計算した。シミュレーション結果は、2つのコンパートメントの一方の細胞外電位を 60 mV 以上低下させることで、細胞外電位を低下させた部位に膜電位の相対的な脱分極による発火が生じうること、および、脱分極した部位で発火が生じれば、それに追従して過分極した部位が脱分極し、結果として細胞全体が発火することを示した。この計算結果を土台として、申請者は、2つの針電極の溶液抵抗（細胞・電極間距離）と電気容量を最適化すれば、双極方形波（5 V<sub>pp</sub>, 125 mV/ms）の印加によって標的細胞のみを発火させられうること（その細胞から 15 μm 以上離れた位置にある細胞は発火しないこと）を理論計算により予測している。また、申請者は細胞間接続を持たないようにマイクロパターン上でオータプス培養した2つの単一神経細胞に2針電極を用いて電気刺激を印加した場合に、それぞれがどのように発火するかについての実験結果も示し、少なくとも細胞間距離が 300 μm 以上であれば、2針電極で照準した細胞のみが発火することも実証している。理論と実験の両面から得られた上記の結果は、従来の2針電極法による電気刺激の機序の理論的

基礎を与えていると同時に、その精度向上の指針を定量的に示すものである。

5章「オータプスを持つ単一神経細胞回路における神経可塑性に基づくシナプス刈り込み」では、オータプスのみを持つ単一神経細胞に、オータプス伝搬遅延時間とスパイクタイミング依存性可塑性を加えた数理モデルを新たに提案し、その機能について論じている。シナプスの一種であるオータプスは原理的にシナプス可塑性を有すると見込めるが、オータプスにシナプス可塑性が組み込まれた解析例はなかった。オータプスを有する神経細胞が自発発火し、多様な発火パターンを示すことから、この自発発火に伴って、オータプス荷重が可塑的に変化することが期待される。しかしながら、オータプスが自己帰還接続であることから、シナプス前後細胞が同一の細胞になる。申請者は、オータプス伝搬遅延をモデルに組み込むことにより、長期可塑性の中でもよく知られるスパイクタイミング依存性可塑性を組み込んだ数理モデルを構築した。異なるオータプス伝搬遅延時間(1~60 ms)を持つ60本のオータプスを有する単一神経細胞をHodgkin-Huxleyモデルを用いて再現し、個々のオータプス荷重の時間変化を計算した。シミュレーション結果は、上流の神経細胞からの信号入力スパイク頻度、および、オータプスの伝搬遅延時間に依存してオータプス荷重の増強と抑圧が生じることを示した。これらは、物理的にオータプスが形成されていても、実効的に電位スパイクを帰還しない接続が生まれること(オータプスの刈り込みが起こること)を初めて予測したものである。

第6章「結論」では、結論と今後の展望を述べている。小規模な神経細胞回路の機能を理解することが、より優れたニューラルネットワークベースの情報処理モデルの構築に応用できることを示唆し、得られた知見の発展性について論じている。申請者は、オータプスをもつ単一神経細胞の機能理解に向けて、その発火パターンを再現できる数理モデルを構築し、その妥当性を実験的に検証できる手法を構築した。構築された数理モデルおよび実験手法は、電気回路理論および表面微細加工技術をベースとして、神経科学と計算機科学を結び付け、両分野に新たな洞察を与える基礎となるものである。よって、本論文を博士(工学)の学位論文として価値あるものと認める。

2024年2月

審査員(主査) 早稲田大学教授 博士(工学) 早稲田大学 谷井 孝至

早稲田大学准教授 博士(情報理工学) 東京大学 森本 雄矢

早稲田大学教授(任期付) 博士(理学) 東京大学 中西 淳