

氏 名	伊 東 嗣 功
学位の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	甲理第160号(文部科学省への報告番号甲第558号)
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	2015年3月17日
学位論文題目	培養神経回路網電気活動ダイナミクスにおける履歴現象
論文審査委員	(主査) 教授 岸 野 文 郎 (副査) 教授 長 田 典 子 教授 工 藤 卓 客員准教授 細 川 千 絵

脳における情報処理を解読して外部機器を制御する、脳-機械インターフェースをはじめとする神経機能補綴(ほてつ)技術の実現には、神経回路網における神経電気活動による情報表現様式を解明することが必須である。この目的のためには、複雑な脳をそのまま解析するのみならず、脳の基本的な機能を保持した *in vitro* の系において神経電気活動のダイナミクスを解析しなくてはならない。神経回路網において、外界からの入力に反応して神経細胞が協調的に活動することで形成される機能的な細胞群、セルアセンブリにより、神経電気活動が様々な時空間パターンを形成することで、無数にある外界の事象を表象することが仮説として提唱されている。しかしながら、セルアセンブリが現実の事象とどのような対応関係を持っているかについての報告は未だ少なく、さらに工学的・半人工的に構成した神経回路網において、外界の事象と対応した入力によって神経活動パターンを制御する、すなわちメモリーの形成を工学的に試みた例はほとんどない。

本論文は、ラット海馬分散培養系に細胞外電位多点計測系を組み合わせ、神経回路網における情報表現を解析し、*in vitro* の系における外界からの入力に対する誘発応答の短期的な履歴現象を新規に発見したことについて述べている。さらに、発見した履歴現象を踏まえて外部からの入力を工夫することにより、自発性神経電気活動におけるネットワークバーストの間隔に、入力のタイミングが埋め込まれる「タイミングメモリー」と言うべき現象を誘導し、この工学的に誘導されたメモリー現象について詳細な解析を行った結果が述べられている。また、これらの情報表現機能を有する神経回路網を用いた、脳機能への試薬アッセイシステムの応用展望についても述べられている。

論文内容の要旨

本論文は計6章で構成されており、各章の内容は以下の通りである。

第1章では、記憶の細胞生物学的基盤について、基礎的な神経伝達機構に関する最近の知見の紹介と神経活動パターンによる情報表現についての仮説、これに関する実験事実、及び最近試行されている研究手法について述べている。また、人工知能研究による脳機能実現へのアプローチを概観し、分散培養系と細胞外電位多点計測システムを組み合わせ情報科学的手法で解析する本研究を、情報工学と神経科学の融合による新しい研究として位置づけ、本研究の重要性と目的について述べ、次章以降の内容を紹介している。

第2章では、本研究で用いた分散培養系の形態学的性質を概観している。本系には神経細胞と数種のグリ

ア細胞が混在し、その他に神経幹細胞が特異的に持つタンパク質を発現した細胞が存在していることを示し、本研究で用いられている分散培養系が長期間安定して神経活動を呈することを述べている。

第3章では、培養した神経回路網において、単一の神経細胞の時間スケールではなく、神経回路網の時間スケールで発現するメモリー的な現象を発見したことを報告している。これは神経回路網に対する刺激の履歴が残る現象であり、その発現には神経細胞間の機能的結合が充分ロバストであることが必須であることを明らかにし、印加された電気刺激の影響が神経回路網内を伝搬することで、刺激の影響が保持される時間（履歴持続時間）が決定される可能性について言及している。

第4章では、2発の電気刺激をペアとした入力を1分間隔で繰り返す操作をコンディショニングと定義し、これを神経回路網に適用することにより、自発的に発生するネットワークバーストの活動間隔とコンディショニング時に印加した電気刺激の間隔に相関が生じ、印加された連続刺激の刺激間隔が、自発的に活動しているネットワークバーストの間隔に保持されるという「タイミングメモリー」というべき現象を報告している。また、タイミングメモリーとして記憶可能な刺激間隔の長さは、刺激応答の履歴持続時間と関連がある可能性について言及している。

第5章では、これまでの研究成果から、脳の情報表現能力の基盤となる機能を有していると考えられる培養神経回路網を「小規模な脳のモデル」と捉えて、脳機能に対する化学物質・薬物の効果をアッセイするシステムに活用する可能性を模索している。64電極から電気活動を計測された、全ての神経細胞の組み合わせにおいて神経間の機能的結合を見積もり、機能的結合マップを生成する手法を確立し、この手法と自発性神経電気活動頻度を指標として、内分泌攪乱物質であるビスフェノール A の神経回路網への影響評価を行った結果について報告している。ビスフェノール A は神経回路網の培養日数に依存して自発性神経電気活動を抑制することを明らかにし、特に、培養日数20-30日の神経回路網に対してビスフェノール A は強く作用し、ビスフェノール A への暴露のあと、ビスフェノール A を取り除いてもその効果は持続することを報告している。この持続効果は、ネットワーク間の機能的結合がロバストになる長期培養した神経回路網においては確認できず、回路網スケールで初めて検出される神経活動へのビスフェノール A の効果が存在することを示した。これらの結果は細胞外電位多点計測手法が内分泌攪乱物質の影響を評価することにも有用である可能性を示しているとし、創薬を視野に入れた薬物の脳への影響の評価には、神経回路網のネットワークとしての機能を視野に入れた空間的活動評価手法でアプローチする必要があると提言している。

第6章では、各章で得られた結論を総括し、将来展望について述べている。

論文審査結果の要旨

失われた脳機能を補完する、あるいは脳と機械を接続する神経補綴（ほてつ）技術の実現には、神経信号の安定した取得・神経電気活動パターンの解釈・神経回路網における情報処理の制御が必須である。これらの技術課題を実現するためには脳高次機能実現メカニズムの理学的な理解はもとより、脳の基本的な機能を保持した *in vitro* の系において神経電気活動のダイナミクスを解析し、神経活動パターンによる情報表現様式を工学的に解明することが必要である。そこで本論文では、ラット海馬分散培養系に細胞外電位多点計測系を組み合わせ、神経回路網における情報表現を解析し、さらに得られた知見を元にして半人工の培養神経回路網における自発性神経活動のネットワークバースト周期に時間情報を埋め込むことを試みている。さらに、化学物質・薬品の脳機能への効果をアッセイする系として培養神経回路網を活用することを新しいネットワーク活動解析手法と共に提案している。

本論文の重要な貢献は以下の通りである。

(1) 分散培養した神経回路網において、単一神経細胞のスケールではなく神経回路網スケールで発現す

るメモリー現象を発見した。これは神経回路網に対する入力履歴現象である。また印加された電気刺激の影響が神経回路網内に保持される時間（履歴持続時間）を明らかにした。

- (2) 入力として印加された連続刺激の刺激間隔が、自発的に顕れるネットワークバーストの間隔によって保持されるという「タイミングメモリー」を実現し、2秒までの刺激間隔に依存した神経活動間隔の変化を確認した。この現象は生体の脳でも発現している可能性があり、タイミングメモリー発現時の神経回路網ダイナミクスを解析することで、どのような機序によって生体が入力されたタイミングを保持しているのかを明らかにできる可能性がある。さらに、このことは工学的・半人工的に構成した培養神経回路網において、外界の事象と対応した入力（入力タイミング）によって神経活動パターンを制御し、メモリーの形成を実現したことでもあり、神経補綴（ほてつ）技術に資する成果である。
- (3) 64電極から電気活動を計測された、全ての神経細胞の組み合わせにおいて、自発性神経活動の条件付き発火確率をもとにして神経間の機能的結合を見積もり、機能的結合マップを生成する手法を確立した。この手法と自発性神経活動の発火頻度を組み合わせてビスフェノール A の自発性神経活動への効果を解析し、回路網スケールで初めて検出される神経活動へのビスフェノール A の効果が存在することを示した。

本論文の内容の一部は、申請者筆頭を含む2編の論文が学術誌において公表され、電気学会論文誌C（電子・情報・システム部門誌）に掲載された論文については「平成25年 電子・情報・システム部門誌奨励賞」を受賞している。申請者は日本神経科学会、電気学会 電子・情報・システム部門大会、ファジィシステムシンポジウムなど広範な分野にわたる国内学会において、本人筆頭で7件の発表を行い、平成25年「電気学会優秀論文発表 A 賞（IEEJ Excellent Presentation Award）」を受賞している。また IEEE Engineering in Medicine & Biology Society が主催する査読付き国際学会、及び Society for Neuroscience annual meeting などのその他関連学会においても、6件の英文プロシーディングスの筆頭執筆及び本人筆頭発表を行っており、審査委員会は申請者が十分な英語運用能力を持つと判断した。

審査委員会は本論文の内容を中心に審査会を開き、また公開の論文発表会を行い、申請者が論文内容および関連する分野について十分な理解と学識を有していること、さらに、将来の研究遂行について十分な能力を有していることを確認した。よって審査委員会は、本論文提出者である伊東 嗣功 氏が博士（理学）の学位を授与されるに足る十分な資格を有するものと判定する。