

論文内容要旨 (和文)

平成16年度入学 大学院博士後期課程 システム情報工学専攻

学生番号 04522304

氏名 富樫 和伸



論文題目 Computational Modeling for activity dependent growth cone guidance and spike-timing dependent synaptic plasticity

(活性依存性神経成長円錐ガイダンスとスパイクタイミング依存性シナプス可塑性に関する計算論的研究)

本学位論文では1)神経成長円錐誘導、2)シナプス修飾、における分子・細胞機能について論ずるものである。神経細胞分化、神経細胞遊走、神経突起成長、シナプス増強・抑圧等、神経細胞が示す反応の多くは細胞内におけるカルシウム濃度($[Ca^{2+}]_i$)や極めて明確なカルシウム信号の時空間パターンにより制御されている。成長過程の神経細胞内又は刺激を受けた後シナプスでの Ca^{2+} 濃度変化は、細胞外からの誘導因子に対して誘引又は反発、後シナプスにおいてはシナプス結合の増強又は抑圧といったそれぞれ相反する(双方向性)反応を引き起こす。本学位論文において、誘導因子であるSemaphorin 3A (Sema3A)により誘発されるカルシウム信号、そしてタイミング・周波数依存の双方向性シナプス可塑性の誘発において発生する Ca^{2+} 濃度変化の制御について解説する。

成長過程の軸索、樹状突起の先端などの神経成長円錐は細胞外からの信号因子(誘導因子のように正しい標的細胞に向けて誘導するもの等)に反応する。そしてその過程は中枢神経系の発生・再生過程において重要な役割を担う。種々の基質結合誘導因子が存在し神経成長円錐に対し誘引又は反発作用を示す。本研究では成長円錐ターニングアッセイ、カルシウムイメージング、電気生理学的手法、生物物理的数理モデルを用いて神経成長円錐のnetrin-1やSema3Aといった誘導因子に対する反応の仕組みについて調査した。その結果アフリカツメガエル(*Xenopus*)の脊椎培養神経細胞において、サイクリックヌクレオチドとカルシウムによる細胞内セカンドメッセンジャーシグナルがSema3Aによって誘発された成長円錐のターニング反応を規定していることを明らかにした。主な結論として、1) 誘導因子が成長円錐の細胞膜電位を変化させることで誘引・反発作用を引き起こしていること。反発誘導因子であるSema3AとSlit2は静止膜電位を低下させ、誘引誘導因子であるnetrin-1とBDNFは静止膜電位を上昇させている。2) Sema3Aが可溶性グアニリルシクラーゼによるグアノシンサイクリックモノリン酸塩($[cGMP]_i$)生成の要因であり、その結果として早期にそして長期にわたる細胞膜電位の低下を引き起こすこと。3) 薬理学的手法による $[cGMP]_i$ の上昇は蛋白キナーゼG (PKG)仲介性の静止膜電位上昇を引き起こし、その結果Sema3Aによって誘発される反発作用を誘引作用に変えること。こうした相反する反応の変化には Cl^- 又は Na^+ チャンネルの活性化が必要であり、その結果膜電位に違いが生じ、細胞内 Ca^{2+} 濃度の違いが生じる。4) 脊椎培養抑制性神経細胞において反発作用を示すSema3Aシグナ

ルによって生成されたCyclic GMPは、CNGC-likeなチャンネルを含んでいるrod-type *Xenopus* CNGA1 (xCNGA1)サブユニットを活性化させること。5) xCNGCsを通したCa²⁺流入にはSema3Aシグナルの仲介が必要があること。従って、成長円錐の静止膜電位変化の極性は反発作用又は誘引作用に帰する。そしてSema3Aは主にcGMP-CNGCシグナルを介してこの反発作用を引き起こす。

また本学位論文では海馬の神経細胞網において記憶形成につながる長期増強(LTP)や長期抑圧(LTD)といった活性依存性のシナプス可塑性についても調査を行っている。海馬や新皮質におけるシナプス可塑性の一つの形態に前・後シナプスの同時発火に依存して協同性や連想性を示すものがある。この形態のシナプス可塑性は興奮性シナプス結合強度の変化として表現される。スパイクタイミング依存性シナプス可塑性(STDP)として知られている前・後シナプス細胞の神経活性の相関により誘発されるシナプス可塑性は神経活性の相関の違いによりLTP又はLTDを引き起こすことができる。海馬CA1神経細胞網におけるHong研究室の調査では、STDPは刺激を受けたシナプスから刺激を受けていないシナプスへと伝搬し(propagation of STDP)、後シナプスの樹上突起において統合される(integration of STDP)ことが示されている。ラットの海馬スライスを用いたホールセル記録法、さらにはシミュレーション解析を採用することにより、STDP誘発下における細胞・分子機能の調査に参加した。その研究の結果、1) Shaffer collateral-CA1興奮性シナプスにおいて時空間的に制御されたGABA依存性の作用はタイミングそして周波数依存性LTDを規定している。2) 後シナプスのGABA_A抑制が(θ周波数で刺激された)約±20 msのスパイクタイミングにおけるLTDを引き起こしている。3) 興奮性・抑制性シナプスにおけるシナプス可塑性の同時誘発は後シナプスGABA_A抑制によるLTD誘発に対する新しいメカニズムを提案する。4) 前シナプスGABA_B抑制はα/β 周波数において周波数依存性LTDの主な原因となる。5) 後シナプスGABA_Aの興奮性作用はγ 周波数におけるLTPを更に強固にする。これらの結果よりGABA依存性の作用はLTDの誘発をコントロールし、その結果興奮性シナプスのLTPに影響を与える。

学位論文の審査及び最終試験の結果の要旨

平成20年7月29日

理工学研究科長 殿

課程博士論文審査委員会

主査 北嶋龍雄

副査 新関久一

副査 山口峻司

副査 Kyonsoo Hong



学位論文の審査及び最終試験の結果を下記のとおり報告します。

記

1. 論文申請者

専攻名 システム情報工学専攻

氏名 富樫 和伸

2. 論文題目（外国語の場合は、その和訳を併記すること。）

Computational Modeling for activity dependent growth cone guidance and spike-timing dependent synaptic plasticity

（ 活性依存性神経成長円錐ガイダンスとスパイクタイミング依存性シナプス可塑性に関する計算論的研究 ）

3. 学位論文公聴会

開催日 平成20年7月28日

場所 7号館 214 室（電情系会議室）

4. 審査年月日

論文審査 平成20年7月22日 ～ 平成20年7月28日

最終試験 平成20年7月28日 ～ 平成20年7月29日

5. 学位論文の審査及び最終試験の結果

(1) 学位論文審査 合格

(2) 最終試験 合格

6. 学位論文の審査結果の要旨

別紙のとおり

7. 最終試験の結果の要旨

別紙のとおり

別紙

専攻名	システム情報工学専攻	氏名	冨樫和伸
学位論文の審査結果の要旨			
<p>神経細胞分化、神経細胞遊走、神経突起成長、シナプス増強・抑圧など、神経細胞が示す反応の多くは細胞内のカルシウム (Ca^{2+}) 濃度やその時空間パターンにより制御されている。本学位論文は、① 神経軸索成長円錐の誘導因子であるセマフォリン3A (Sema3A) により成長円錐内で誘発される Ca^{2+} 濃度変化が細胞膜及び小胞体膜を介する Ca^{2+} 流入によってどのように制御されるか、② 海馬神経回路網において観測されている長期増強 (LTP) や長期抑圧 (LTD) といった活性依存性のシナプス可塑性について、モデルを用いた計算論的手法によりスパイクタイミング依存性シナプス可塑性 (STDP) および周波数依存性シナプス可塑性の誘発に Ca^{2+} 濃度変化および GABA 抑制性回路がどのように関わるか、を明らかにするために行なわれたものである。本学位論文は6章から構成されている。</p> <p>第1章では、神経軸索成長円錐の双方向性ターニング及び STDP に関するこれまでの実験研究の流れを概説している。また、計算機シミュレーションで用いられる各種イオンチャネルの基本ダイナミクスである Hodgkin-Huxley 型方程式と Goldman-Hodgkin-Katz 方程式の性質を示している。</p> <p>第2章では、成長円錐ターニングアッセイ、Ca^{2+} イメージング、電気生理学的実験といった様々な実験的手法によって、アフリカツメガエルの脊椎培養神経細胞において、サイクリック GMP (cGMP) といった環状ヌクレオチドや Ca^{2+} による細胞内セカンドメッセンジャーが、Sema3A によって誘発された成長円錐の双方向性ターニングにどのように関わっているかを検証した。神経成長円錐が誘引・反発の双方向性特性を持つためには Cl^- 又は Na^+ チャンネルの活性化が必要であり、Sema3A が成長円錐の細胞膜電位を変化させることでそれらを引き起こすことを明らかにした。</p> <p>第3章では、軸索経路探索に関与していると考えられている環状ヌクレオチド依存性チャンネル (CNGC) の特性を調べるために「電圧逆ランプ法」を提案した。モデルを用いた計算機シミュレーションにより、膜電位依存性チャンネルを介さないリーク電流特性を調べ、本手法が実験的に有効な推測を与えることを示した。この結果、脊椎培養抑制性神経細胞において、成長円錐の静止膜電位変化の極性により神経成長円錐の反発又は誘引が起こり、Sema3A は主に cGMP-CNGC シグナルを介して成長円錐の反発作用を引き起こすことを明らかにした。</p> <p>第4章では、ラット海馬スライスを用いたホールセル記録法で得られた実験的知見をもとに海馬 CA1 野神経細胞モデルを構築し、計算機シミュレーションにより、時空間的に制御された GABA 依存性の作用はスパイクタイミング依存性 LTD および周波数依存性 LTD を規定していること、及び前シナプス GABA_B 抑制は α/β 周波数において周波数依存性 LTD の主な原因となり、後シナプス GABA_A の興奮性作用は γ 周波数における LTP を更に強固にすることを明らかにした。</p> <p>第5章では得られた結果を統括して結論を述べ、今後の展望を論じている。</p> <p>第6章は参考文献リストである。</p> <p>以上のように、本論文において、モデルを用いた計算機シミュレーション手法が実験研究に対して有益な予測を与え、またその検証に役立つことを示した。これらは計算論的神経科学研究と実験的神経科学研究の相互補完を実践したのものとして、学術的に多に価値があるものと本審査委員会は判断した。また、本論文に関して2本の英文学術雑誌、投稿中論文1本、国際会議2本が報告されている。これらの結果、本審査委員会は本論文が学位論文として十分であると認め、合格と判定した。</p>			
最終試験の結果の要旨			
<p>学位論文公聴会および面接試問において学位論文に関する質疑を口頭で行ったところ、明瞭かつ的確に回答し、それらの質疑応答を通して、関連する知識、理解力、洞察力、問題解決能力など、博士として必要とされる専門知識および研究能力を十分に備えているものと判断し、合格とした。</p>			