

論文審査の結果の要旨

氏名 吉田 墨

本論文は 6 章構成である。

第 1 章では、研究背景並びに関連分野の動向に関する考察に基づき、研究目的と具体的な検討課題が提示されている。すなわち、生体システムの恒常性維持に本質的な役割を果たす神経調節作用—neuro modulation—について、特にノルアドレナリンの作用に焦点を当て、これを細胞・神経回路レベルの現象として可視化するデバイスを設計・製作・評価することを目的として設定している。神経調節は、広範囲の神経活動を長時間にわたってゆるやかに制御するシステムであり、その影響を理解するためには神経活動の長期時空間計測技術が必須である。工学技術、特にマイクロ加工技術を積極的に利用して計測デバイスの開発を行うことが本研究の特徴であり、多点電極付き基板 (microelectrode array; MEA) 上にシリコンゴム (polydimethylsiloxane; PDMS) 製マイクロ細胞培養チャンバを形成したデバイスの設計・製作というアプローチをとる。開発するデバイスの有用性検証という立場から、発達段階及び成熟段階のラット海馬培養神経回路活動に対するノルアドレナリン調節作用、青斑核培養神経回路の活動と青斑核・海馬共培養系を用いたノルアドレナリン神経調節作用の可視化を具体的な検討課題として設定している。青斑核はノルアドレナリン作動性ニューロンを含む主要な神経核であり、海馬に対するその調節作用の変調がてんかん等脳神経疾患の原因になると可能性がある。青斑核の海馬に対する調節作用の可視化が、難治性てんかんに対する治療手法の 1 つとして臨床医療の場で適用されているにも関わらず作用機序は不明なまま推移している迷走神経刺激療法 (vagus nerve stimulation: VNS) の作用機序解明に近い将来結びつくことが期待できる。

第 2 章では、成熟段階に達した海馬培養神経回路に対するノルアドレナリン投与の効果が示される。ノルアドレナリン投与により誘起される神経回路の自発活動変化をスパイク数、バースト活動の発生数などを指標に評価した結果、基本的にノルアドレナリンは神経回路活動を抑制する方向に作用すること、同時に約 200 秒という長周期の活動パターンが強調される傾向が見られるという知見が提示される。さらに、神経回路活動が発生・発達の段階に依存して変化することを勘案し、培養開始からの日数を変えてノル

アドレナリン調節作用の評価を行った結果を第 3 章にまとめている。神経回路活動の抑制という基本的な傾向は時期によらず認められるが、ノルアドレナリン濃度に依存した活動パターンの変化は発達段階に応じて異なるという結果を報告している。ノルアドレナリン受容体として α_1 、 α_2 の 2 つを想定したアゴニスト投与実験を行った結果、 α_2 受容体が活動抑制と周期的な活動の強調に主要な役割を果たしており、 α_1 受容体も並行して周期的な活動の強調傾向を示すという知見が得られた。

第 4 章は青斑核培養神経回路の活動評価である。青斑核培養系を用いた研究は少なく、培養プロトコルそのものが確立されていなかった。本研究で MEA 基板上の青斑核培養神経回路という計測系を構築した結果、青斑核由来培養神経回路網は海馬とは明確に異なり、非同期的な自発活動を示すことが明らかになった。スパイク間隔 (inter-spike interval; ISI) ヒストグラムは、これまでに報告されている *in vivo* 実験の結果と矛盾しないこと、さらに、移動エントロピーを指標とする情報理論的解析により、青斑核の細胞間シナプス結合強度は海馬に比べて顕著に小さい、すなわち回路内のシナプス結合形成は疎であることが示唆された。第 5 章は青斑核・海馬共培養系の計測結果である。共培養系において、海馬領域で発生するスパイク数、バースト数は単独培養系と比べて顕著に少なく、青斑核の活動が海馬に対する抑制作用を有することを示唆する結果が得られた。相対スパイク時刻、移動エントロピーを指標とする解析により、海馬と青斑核は機能的な結合を有し、海馬から青斑核へ向かう強い結合が含まれる可能性が示された。

以上、設定した研究目的、課題に対して得られた研究結果に基づき、第 6 章で結論と今後の展望について総括している。神経調節作用、特にノルアドレナリンに焦点を当てた調節作用を神経回路レベルの現象として長期間観測する手法を確立し、VNS 作用機序解明に向けた研究展開の可能性を示したことが本研究の意義である。なお、本論文第 2 章、第 3 章、第 4 章、第 5 章の一部は、神保泰彦、小谷潔との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験及び解析を行ったものであり、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

従って、博士 (科学) の学位を授与できると認める。