

情報科学の立場からの神経科学研究

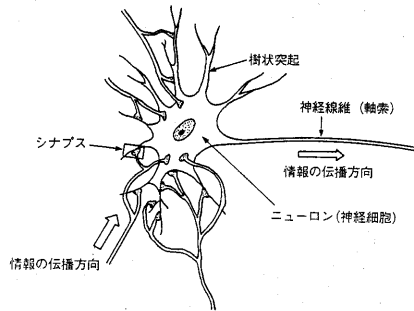
Computational Neuroscience Studies

松本 元

MATSUMOTO GEN

電子技術総合研究所・電子計算機部・アノック情報研究室

Electrotechnical Laboratory



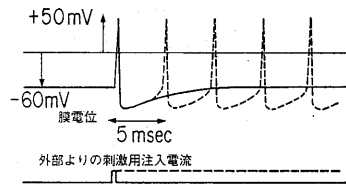
第 5.1 図 神経細胞間での情報伝達の向き

5.2 単一神経細胞での研究

単一神経細胞の研究としては、従来よりヤリイカ巨大神経細胞を対象としてきた。神経線維の基本的性質を知る為に、興奮インパルス発生が物理的にどの様に理解されるかを明かにした。神経細胞が生きている（機能する）為には細胞が非線形非平衡系であることが必要であるので、問題の設定を「神経線維が非線形非平衡環境にあれば、インパルス発生という興奮活動が生じるか」とした。

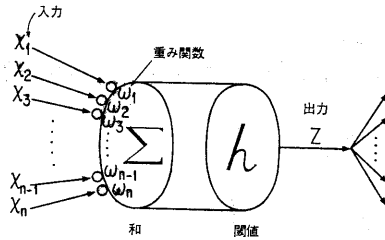
詳しい実験的検討の結果、「インパルス発生は、外部電流によって助けられて起こるリミットサイクル状態（非線形非平衡系特有の状態）への転移である」との結論を得て、興奮発生の物理モデルを提案した<sup>1)</sup> (第 5.2 図)。このモデルの詳細は現在猶、より深く検討を進めている。さらに、神経線維とこれを取りまく外界から成る系は典型的な非線形非平衡系であるとの立場から、実験的にも現象論的立場からも研究をすすめ<sup>2-7)</sup>、最近に至って生理的環境下に近い条件でカオスが出現することも明らかとなった<sup>8,9)</sup>。

人工ニューロンが画一的で「多入力1出力閾値論理素子」という仮定 (第 5.3 図) は神経細胞を単純化しすぎている。当研究室では、ヤリイカ巨大軸索での電気的興奮 (インパルス) 発生に細胞内側において細胞膜に付随する蛋白質・構造体がかかっているのではないかと考えられる電気生理学的実験結果を得て<sup>10)</sup>、細胞骨格 (微小管, アクチンフィラメント) あるいは、これらに関連す



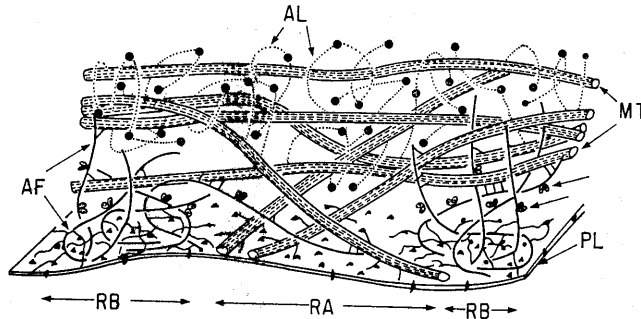
第 5.2 図 神経線維での刺激電流に対する膜電位応答

る蛋白質に注目し薬理学的手法と電気生理学的手法によって検討を進めてきた<sup>11-16,20)</sup>。また、これと併行して膜と細胞骨格がどのように相互作用するのかを生化学的手法および電子顕微鏡観察などによって明らかにして<sup>17-19,21)</sup>、膜機能が分子レベルで細胞内部からどのように制御・調整されるか



第 5.3 図 人工ニューロンの定義

出力  $z=f(w)$  で  $\sum_{i=1}^n x_i w_i + s = h$ . 但し  
関数  $f(w)$  はロジスティック関数。



第 5.4 図 ヤリイカ巨大神経線維の膜裏打ち構造、膜骨格の様式図  
AF; アクチンフィラメント, MT; 微小管, AL; アクソニン,  
PL; 細胞膜, RA; 細胞膜の微小管支配領域, RB; 細胞膜のアク  
チンフィラメント支配領域。

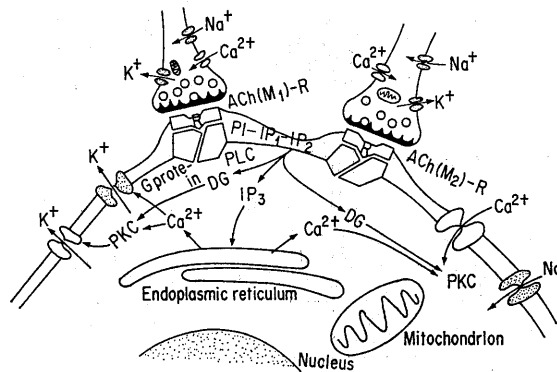
という生理的主題と関連づけようとしている。神経膜の裏打ち構造・細胞骨格の分子レベルからの形態モデル(第 5.4 図)を提案しており<sup>22)</sup>、これらは高く評価されている。神経細胞内からの化学情報処理が極めて重要であるとの認識は、近年に至ってシナプス部でも一般的となっている。神経細胞は人工ニューロンの仮定の様に決して画一的なものでなく、極めて多くの特性をもつ種類(大脳には形態的に見ても少なくとも 50 種類)がある。後シナプス部ではトランスミッタ(伝達物質)がリセプタに入力(化学情報)することによって、イオン透過性の一過的(Transient)な変化としてチャンネルで電気情報に変換される。この化学情報から電気情報への変換の途中、細胞内でもう一度化学情報に変換され処理される場合がある(第 5.5 図)。また、ある場合には短期・長期の記憶として保持される。現在では単一の伝達物質に対し、いくつかの種類のリセプタが存在し、細

胞内での化学伝達・処理の過程にも多くのバラエティが存在し、この結果きわめて多種のチャンネルの動作が制御され電気的变化として出力される。これが1つのシナプスで行われる情報処理であり、その多彩さは少なくともリセプタの種類×細胞内情報伝達路の種類×チャンネルの種類だけ存在する。これらの多彩さのうちどれがどの様に発現するかは、神経細胞によってまた神経細胞のとりまかされている環境や過去の履歴によって異なる。こうした研究をラット脳・海馬やウサギ交感神経などの培養神経細胞で開始している<sup>33,34)</sup>。ヤリイカ巨大神経細胞のシナプス部位においても、細胞内化学伝達・処理の過程にとくに着目している。

### 5.3 神経細胞系の研究

神経細胞系の最も単純なものは、2種の異なる神経細胞が作るシステムである。2つの神経細胞、さらにはこれ以上の数の神経細胞間での特異的相互作用の性質を分子のレベルから明らかにすることが、まず第一の研究課題である。興味ある特異的相互作用としては、(1)長期増強などの現象で代表される可塑性、(2)シナプス形成が、新しく作られる発芽 (Sprouting) などである。長期増強現象というのは、2種ニューロンA、B間にシナプス結合があるときニューロンAから高頻度の刺激が一定期間にわたってニューロンBに加えられると、その後単一の刺激に対するニューロンBの応答が、長期(数日から数カ月以上)にわたり高頻度刺激を受ける前に比べ数倍高く維持される現象で、学習の基礎過程と考えられる。発芽とは既存のニューロンネットワークに情報入力が集まると中枢ニューロンから新しく線維が発芽して上位のニューロンに結合することで、回路中にバイパスを形成して情報処理能力を上げる現象である。

これらの研究をすすめる為に、各種神経細胞を選択的によりわけ、標的神経細胞同志を人工的に

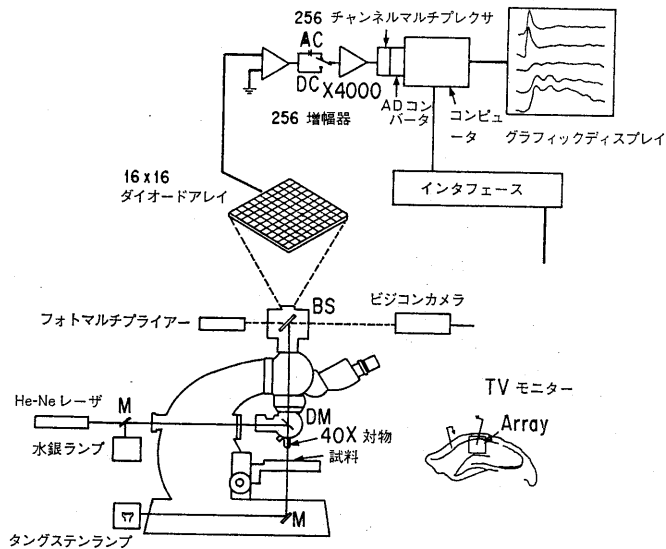


第5.5図 ムスカリン様応答をするシナプス部位での後シナプス部情報伝達の経路

制御してシナプス結合を行わせる培養技術の確立が基礎となる。この方向への努力の一環として、神経細胞を長期に亘って凍結保存し、その後培養皿に移植して通常の興奮能を有するニューロンネットワークの形成を可能にする技術の開発に一部成功している<sup>25)</sup>。この技術をさらに発展させて選択的にニューロンネットワークの形成を行わせることをめざしている。一方、ニューロンネットワークの各部位の活動を無侵襲に多点同時に計測しうる光学的手法(第5.6図)の開発を行い、一部成功し培養神経に適用している。ここでの研究はすべて着手したばかりで今後大いに発展させてゆきたい。

#### 5.4 神経細胞・神経細胞系の研究から情報科学的に有用な情報の抽出

人工ニューロンの集団が行う情報処理(演算)をニューロンコンピューティングと呼び、現在世間で脚光をあびている。この種の研究は1970年以前に一度隆盛をみて、その後下火になっていたが、数年前より米国のHopfield(カリフォルニア工大)が「人工ニューロンの集団としての特性をうまく引き出せれば、極めて特徴的な情報処理を行わせることができる」ということを言い出し再興したものである。当研究室では、これとはまったく独立に「1970年以前に何故この方向からのアプローチで脳機能の工学的再構成に失敗したか」ということに対する分析を行った。この結果、人工ニューロンの仮定は実際の神経細胞を余りに単純化しすぎており、神経系の特異的相互作用に



第5.6図 神経系の電氣的活動を多点同時に無侵襲計測するための光学システム

についてももっと十分配慮する必要がある、との結論を得た。神経科学の研究を情報科学的立場からすすめる、さらにその結果の情報科学的有用性を論ずるという経過をへれば、必ず新しい計算方式（バイオコンピューティング）が創出できるだろうと確信した<sup>16,17,18</sup>。こうして次世代プロジェクトを提案し、当研究室の提案が採択された形で1986年度より「バイオ素子」プロジェクトが進められている。上記(1)および(2)の課題のうちの一部は、このプロジェクトで強力にすすめられている。

### 5.5 今後の展開

上記研究を強力に推し進める為に、きわめて多岐のアプローチ（生理学、電子顕微鏡等による形態観察・生化学・細胞培養やモノクローン抗体作成などの細胞生物学・遺伝子工学・動物飼育・情報科学・電子工業・物理学・材料工学などの手法）を並行して採用することが必要となる。

(1) 生理学的手法：電極を用いた電気生理学的手法は単一のチャンネルを透過するイオンの挙動（電流量として pA）を実時間で観察できる程高感度であり、膜部位での興奮の素過程を明らかにする為に欠かせない。また、ヤリイカ巨大神経線維は代表的な電位依存性チャンネルである Na チャンネル（Na イオンを選択的に透過させるチャンネル）のゲート電流（チャンネルの開閉を制御する部位の動きに伴って発生する変位性電流）を電気生理学的に観察できる唯一の対象である。こうして電気生理学的手法は興奮の素過程を解析する手段として欠かせない。

単一の神経細胞での各局所部位あるいは多数の神経細胞から成るシステム（ニューロンネットワーク）の各所での活動を同時に観察することが、当研究室の目的を達成する為に必要となる。このとき多数個の電極を一個の細胞に刺入することは空間的に困難であるし、ダメージが大きくて実際には用いられない。従って、無侵襲に多点同時に神経活動が測定できる高感度な手法の開発が極めて重要となる。この為、光学的な手段によりこの目的を満足させる手法の開発をめざしている（第5.6図）。

(2) 顕微鏡観察の手法：神経細胞膜およびそれを取りまく形態を分子のレベルで観察する為の手法としては、現在のところ電子顕微鏡が唯一の手段と言える。生物試料の場合、電顕観察には固定を必要とする。試料固定に伴うアーティファクトを出来るだけ最小にすることがここでの課題となる。また、化学固定では試料固定に要する時間が、数分から数時間のオーダーである為、たとえどんなにきれいな形態像がえられたとしても、それを生理的状态（ミリ秒から数100ミリ秒の時間オーダー）と対応させることは出来ない。それはむしろ生（非平衡）の状態というより死（平衡）の状態の像である。形態観察と生理研究を融合させて行う手法として、試料の急速凍結法があり、本研究室は、この手法を発展させてきた<sup>19,20</sup>。急速凍結は生体試料を液体ヘリウム温度に冷却した無酸素銅表面に急速に圧着することにより、ミリ秒あるいはこれ以下の時間以内で試料を室温より液体ヘリウム温度近く低温にすることで凍結固定するものである。従って、室温保持時の生理的状态を保存して試料固定するものである。従って、室温保持時の生理的状态を保存して試料固定を行

うことができ、いわばストロボ写真ではあっても、ある生理的側面に対応する分子と分子構築の情報を得ることができる。この技術発展によって、神経科学は大いに進展するものと期待され、当研究室の中心技術の一つとする。

光学顕微鏡はストロボ写真の急速凍結法と組合わせた電子顕微鏡を補う実時間観察手法である。デジタル画像処理技術を併用することにより、可視光を用いて空間分解能 20nm・時間分解能～30 ミリ秒は今や容易であり、生物研究の手法として数年前より大いに見直されている。レーザー光を光源とすることでさらに空間分解能を改善し、テレビ撮像管の代わりにもっと早い並列画素プレートを用いるなどにより時間分解能を改善すれば、生きたままで蛋白質や構築の挙動を実時間で観察することも夢ではない。

これらの技術開発も神経研究の進展の鍵といえる。

(3) 細胞培養・モノクローン抗体作成などを含む細胞生物学の手法：当研究室ではモノクローン抗体作成技術は神経科学研究にとって重要と判断し、モノクローン抗体技術が最初に開発されてより国内で最も早い時期にこの技術を導入した。作成したモノクローン抗体は免疫電顕あるいは蛍光抗体染色による光顕によって、目的とする蛋白質等が細胞内のどの部位に極在するかを知る為に用いることができるのみならず、モノクローン抗体で作ったアフィニティーカラムを製して抗原となった蛋白質を精製するなどの生化学研究への用途、さらにはモノクローン抗体を細胞に注入して、その生理反応を解析することにより抗原となる蛋白質の特異的機能部位の決定を行える、など極めて多くの有効な用途があり極めて重要な技術である。

神経細胞の培養技術は最近研究室に導入された。ここではさらに将来、異種神経細胞間の選択的ネットワーク形成を行えるようにする為、(1) 神経細胞のより分けをいかに行うか、(2) 神経細胞を特定位置にいかに配置させるか、などが要素技術となる。前者のより分けに細胞を認識することが必要となるが、ニューロンの種毎に表面抗原が異なることを利用してモノクローン抗体を用いてより分けることも一つの方法である。神経細胞系の行行情報処理の基本原理の解明の為に、これらの技術的困難を克服する研究競争は世界的に熾烈であり、これに是非打ち勝つ必要がある。

(4) 生化学的手法・遺伝子工学的的手法：神経細胞内で特異的な機能を担う蛋白質の同定・精製さらにはその生化学的(試験管内での)性質の理解は神経細胞の行行情報処理の分子レベルからの解明にとって最も基本となる。この為、生化学的手法は重要である。量的に少ない蛋白質については遺伝子工学的手法で解析する必要がある。DNA 順序を知って蛋白質のアミノ酸順序を決定し一次構造を知ることが、現在では一般的に行われている。また、得た DNA を一部改変して、あるいはそのままで元のあるいは別の細胞に再び戻すという再構成実験によって蛋白質が細胞で果たす機能を知ることできる。

(5) 動物飼育：目的とする実験に最も適す動物を良い環境下で健康に飼育するという事は、神経科学研究を進める最も基本である。飼育はとかくないがしろに考えがちであるが、当研究室は飼育を極めて重要と考える。無菌的に動物を飼育しなくてはならないこともあり、また学習な

どの訓練をほどこす必要もある。

#### 参 考 文 献

- 1) 松本 元：神経興奮の現象と実体（上）（丸善，1981）。
- 2) G. Matsumoto, K. Aihara, M. Ichikawa and A. Tasaki: "Periodic and Nonperiodic Responses of Membrane Potentials in squid Giant Axons under Firing to Sinusoidal Current Stimulation" *J. Theor. Neurobiol.* **3** (1984) p. 1.
- 3) K. Aihara, G. Matsumoto and Y. Ikegaya: "Periodic and Non-periodic Responses of a Periodically Forced Hodgkin-Huxley Oscillator" *J.theor. Biol.* **109** (1984) p. 249.
- 4) K. Aihara, G. Matsumoto and M. Ichikawa: "An Alternating Periodic-Chaotic Sequence Observed in Neural Oscillators" *Phys. Lett. A* **111** (1985) p. 251.
- 5) K. Aihara and G. Matsumoto: "Chaos," ed. by A.V. Holden (Manchester Univ. Press, 1986).
- 6) K. Aihara, T. Numagiri, G. Matsumoto and M. Kotani: "Structures of Attractors in Periodically Froeced Neural Oscillators" *Phys Letters A* **116** (1986) p. 313.
- 7) K. Aihara and G. Matsumoto: "Forced Oscillations and Routes to Chaos in the Hodgkin-Huxley Axons and Sgqid Giant Axons" in *Chaos in Biological Systems*, ed. by H. Degn, A.V. Holden and L.F. Olsen (Plenum Publishing Crop, 1987) p. 121-131.
- 8) G. Matsumoto, K. Aihara, Y. Hanyu, N. Takahashi, S. Yoshizawa and J. Nagumo: *Phys. Letters A* **123** (1987) 162. "Chaos and Phase Locking in Normal Squid Axons".
- 9) G. Matsumoto, N. Takahashi and Y. Hanyu: "Chaos, Phase Locking and Bifurcation in Normal Squid Axons," in *Chaos in Biological Systems*, ed. by H. Degn, A.V. Holden and L.F. Olsen (Plenum Publishing Corp., 1987) p. 143-156.
- 10) 松本 元：神経興奮の現象と実体（下）（丸善，1982）。
- 11) G. Matsumoto, M. Ichikawa, A. Tasaki, H. Murofushi and H. Sakai: *J. Membrane Biol.* **77** (1984) 77. "Axonal Microtubules Necessary for Generation of Sodium Current in Squid Giant Axons: I. Pharmacological Study on Sodium Current and Restoration of Sodium Current by Microtubule Proteins and 260K Protein"
- 12) G. Matsumoto, M. Ichikawa and A. Tasaki: *J. Membrane Biol.* **77** (1984) 93. "Axonal Microtubules Necessary for Generation of Sodium Current in Squid Giant Axons: Effect of Colchicine upon Asymmetrical Displacement Current"
- 13) G. Matsumoto: *J. theor. Biol.* **107** (1984) p. 649. "A Proposed Membrane Model for Generation, of Sodium Currents in Squid Giant Axons"
- 14) H. Sakai, H. Murofushi and G. Matsumoto: *Zoological Science* **1** (1984) p. 16. "High Molecular Weight Proteins of Nerve Cells Inducing Cross-Linking or Bundling of Cytoskeletal Proteins"
- 15) G. Matsumoto, M. Urayama and M. Ichikawa: *J. theor. Biol.* **112** (1985) p. 695. "Modified Hodgkin-Huxley Gating Kinetics of Sodium Activation in Giant Axons of Squid (*Doryteuthis bleekeri*)"
- 16) G. Matsumoto and M. Ichikawa: *Neuroscience* **14** (1985) p. 327. "Kinetics of Sodium

Activation in Giant Axons of Squid (*Doryteuthis bleekeri*)”

- 17) H. Sakai, G. Matsumoto and H. Murofushi: *Adv. Biophysics* **19** (1985) p.43. “Role of Microtubules and Axolinin in Membrane Excitation of the Squid Giant Axon”
- 18) S. Tsukita, S. Tsukita, T. Kobayashi and G. Matsumoto: *J. Cell Biol.* **102** (1986) 1710. “Subaxolemmal Cytoskeleton in Squid Giant Axon II. Morphological Identification of Microtubule- and Microfilament-Associated Domains of Axolemma”
- 19) T. Kobayashi, S. Tsukita, S. Tsukita, Y. Yamamoto and G. Matsumoto: *J. Cell Biol.* **102** (1986) p. 1699. “Subaxolemmal Cytoskeleton in Squid Giant Axon I. Biochemical Analysis of Microtubules, Microfilaments and Their Associated High-Molecular-Weight Proteins”
- 20) G. Matsumoto, M. Ichikawa and M. Urayama: *Biomed. Res.* **7** (1986) p.53. “A Quantitative Description of the Sodium Channel Opening in Giant Axons of Squid (*Doryteuthis bleekeri*).”
- 21) M. Ichikawa and G. Matsumoto: *Science on Form* ed. by S. Ishizaka (D. Reidel Pub. Co., Dordrecht, Boston, Lancaster & Tokyo) (1986) p. 85-90 “Axonal Microtubules in Squid Giant Axons Observed under an Optical Microscope and Their Structural Relation to the Membrane Excitability”
- 22) G. Matsumoto, T. Arai and S. Tsukita: 国際細胞生物学会議招待講演 (モントリオール, 1988) “Organization of the Axonal Cytoskeleton. Differentiation of Cytoskeletons in the Squid Giant Axon”
- 23) 飯島敏夫, 松本 元: 第 25 回日本生物物理学学会年会 (徳島, 1987) “ラット海馬 CA1 ニューロンの ACh に対する過分極応答”
- 24) 飯島敏夫, 関口達彦, 松本 元: 第 11 回神経科学学術集会 (東京, 1987) ムスカリニック応答における er. の役割”
- 25) 飯島敏夫, 松本 元, 畠中 寛: 第 30 回日本神経化学学会 (東京, 1987) “Culture of the CNS Neurons after Freeze and Storage”
- 26) G. Matsumoto: コンピュータの最前線に関する国際シンポジウム招待講演 (アムステルダム, 1987) “Neurocomputing-Neurons as Microprocessors.”
- 27) G. Matsumoto and H. Kashiwagi: ニューラルコンピューティングに関するヨーロッパシンポジウム招待講演 (ロンドン, 1988) “Japanese Perspective on Neural Computing”
- 28) S. Tsukita, S. Tsukita and G. Matsumoto: *J. Cell Biol.* (1988 May) “Light-induced Structural Changes of Cytoskeleton in Squid Photoreceptor Microvilli Detected by Rapid-freeze Method”
- 29) 神沼二真, 松本 元: バイオコンピュータ (紀伊之国屋書店, 1988).