

# 単一神経細胞の電気生理とモデル

講師：高木 博

レポーター：菅生康子・畠山元彦

平成 11 年 8 月 25 日

## はじめに

脳の中では神経細胞がネットワークを構築している。その神経細胞は非常に複雑な形をしており、細胞体、樹状突起、軸索などからなっている。この複雑な神経細胞による情報処理過程はどのようになっているのであろうか。まず神経細胞とそれが結合する別の神経細胞との間にはシナプスが形成されている。シナプス部位では、シナプス前膜から伝達物質が放出され、その結果シナプス後部の細胞がそれを入力として受け取る、と考えられてきた。シナプス後部のある樹状突起部分は *passive* な性質のもので、シナプス部位での入力が樹状突起からの出力として、一対一に細胞体に伝えられると考えられてきた。そして、シナプスで神経細胞の情報処理システムの大部分がわかると考えられてきた。学習や記憶などにしても同様である。ところが最近、樹状突起は単に *passive* な性質のものではなく、ケーブル理論に従わない *active* なものであることが分かってきた。そこで、神経回路の情報処理システムを知るために、樹状突起での情報統合機構を調べる必要が出てきた。

## 1 樹状突起での情報伝達機構 (最近の知見)

従来の海馬の LTP のモデルでは、ポストシナプス側は樹状突起の形態もないがしるにされ、シナプス前膜からグルタミン酸が出ると様々な酵素が活性化されるということになっている (図 1)。シナプスで起きている事象だけ解れば、ポストシナプス側では常に同じような変化が起きていると考えられた。しかし最近、樹状突起部位もきちんと考慮に入れなければならないということになった。樹状突起に適用できると考えられてきたケーブル理論では、1) 樹状突起に存在するイオンチャネルは膜電位依存性をもたない、2) 樹状突起は分岐のない 1 本のシリンドラと電氣的に等価とみなされる、が前提とされた。そして、熱伝導方程式に近い形で熱の拡散あるいは散逸過程で、距離に依存して膜電位の減

衰を近似できるとされた。しかし、様々なイオンチャンネルが樹状突起に分布し、ケーブル理論を適用できる条件が膜電位が十分小さい場合のみでしかないことも最近明らかになった。そこで、まず樹状突起の性質をもう一度見直そうということになった。

樹状突起がケーブル理論に従うとすると、距離に依存してシナプス電位の減衰がおきる。しかし、1997年のホフマンらの報告によって、様々なイオンチャンネルが樹状突起に高密度に存在し、入力が単純に軸索まで伝わらない、ということが示された。

今回紹介する海馬のCA1錐体細胞の場合、樹状突起には12～13種程度のイオンチャンネルが存在することがストームら(1990)により報告されている(図2)。そのうちまずK(カリウム)チャンネルを考えることにした(A型Kチャンネルが樹状突起に高密度に存在することが知られているからである)。ホフマンら(1997)は樹状突起でパッチクランプ法で調べ、transientに開くチャンネルが樹状突起には多いが細胞体には殆ど存在しないこと、そして、不活性化の遅いチャンネルは樹状突起と細胞体の両方に存在すること、を報告した(図3)。この樹状突起に存在するtransient型のチャンネルは4-aminopyridine(4-AP)に感受性があり、つまりA型Kチャンネル(Aチャンネル)であることが示された。そこで我々は、Aチャンネルが樹状突起のシナプス信号の入力にどのように関与しているのか調べることにした。[補足：チャンネルの種類の決め方はその電気的特性(活性化が早いか不活性化が早い)とイオン1個が流れる時のconductivity(シングルチャンネル recordingなどによる)で決まる。transient型カリウムチャンネルは、過渡的にしか電流を流さない性質から決められた。チャンネルの種類を表に示す(表4)。]

## 2 樹状突起でのシナプス信号統合機構 (主にKチャンネルについての実験結果)

i) A型Kチャンネルの電気的特性 海馬のCA1領域の錐体細胞にはA型Kチャンネル(transient型)とD型Kチャンネル(delay current型)が高密度に存在することが報告されている。まず、シナプス部位に入ってきた入力がA型Kチャンネルでどのような影響をうけて細胞体に伝わるのか、理論と実験の双方から検討した。実験は、海馬スライスでパッチクランプ法(図5)で行った。パッチクランプでは、細胞にガラス電極を近付け、高抵抗にさせて、その部分の電流を測る。近年スライス標本にも適用できるようになりスライスパッチ法(図6)とよばれている。脳スライスを作成してクリーニングピペットで細胞体を露出して、その部分でwhole cellパッチクランプを行う方法である。生後2-4週齢のラットの海馬スライスを作成し、CA1領域の錐体細胞でスライスパッチ法でwhole cell記録を行った(図7)。錐体細胞の細胞体から約300 $\mu\text{m}$ 離れている樹状突起を電気刺激してシナプス入力を生起させた場合と、細胞体の近傍で電気刺激をした場合のシナプス入力を生起させた場合の比較をした。さらに、最初にあらかじめ脱分力パルス(持続時間100ms、150mV)を入れてA型Kチャンネル(A current)を不活性化をしたときに、シナプス電流にどのような影響があるかを調べた。そして、A型Kチャンネルのシナプス信号の統合機構

について定量的に解析した。

まず whole cell 記録で細胞を脱分極して、A current を記録できることを確かめた。細胞を脱分極すると、内向きの Na current が流れ、その後外向きの電流がながれた。活性化も不活性化も速く、数 10ms で不活性化した電流が流れた (図 8)。A 型 K チャネルの blocker である 4-AP を 5 mmol 投与したところ、過渡的な外向き電流が消えた。最初の内向きの Na current の大きさには変化がなかった。洗い流すと過渡的な外向き電流は回復した。チャネルの kinetics と 4-AP の効果を合わせ、過渡的な外向き電流が海馬 CA1 領域の錐体細胞の樹状突起に高密度に存在している A 型 K チャネルによる A current を記録したものと考えた。

ii) A 型 K チャネルは時間間隔の短い連続刺激を受けると不活性化し、さらに A current の不活性化の時間経過を定量的に調べるために、2 発の脱分極パルス (持続時間は各々 100ms) で時間間隔をかえて電気刺激をした (図 9)。時間間隔が短く 10ms の時には、2 発目のパルスに対しては不活性化がおこっており、A current が小さくなった。時間間隔を 50ms、200ms と長くすると不活性化の程度は落ちた。このように、2 発の電気刺激の時間間隔を変えることで、A current の不活性化の状態をコントロールし、時間間隔に対する不活性化の割合を測定した。その結果、図のような関係が得られた。この不活性化の割合が、EPSP の modulation に与える影響を調べた。

iii) EPSC は時間間隔の短い連続刺激によって増強し、その増強は A 型 K チャネルの blocker によって抑えられた。まずコントロール実験として、樹状突起の先端 (図 7, Input1) からシナプス入力をした場合、EPSC (excitatory post-synaptic current) が観察された (図 10)。EPSC は AMPA (グルタミン酸受容体) に対する応答の電流を記録したものである。そのときに、先ほどの A current を不活性化するような脱分極パルスを時間間隔を変えて与えた。時間間隔が 20ms のときの EPSC はコントロールに比べて増大した。50ms でもやはり増大した。200ms のときは 50ms と 20ms に比べて少なく増大がみられた。このように時間間隔依存的な EPSC の増加が起った。つまり、樹状突起の A current の不活性化の結果、EPSC の amplitude が変わって出力されたと考えられる。ケーブル理論に基づくと、EPSC の立ち上がりと持続時間が変わると考えられるので、立ち上がりからピークに達するまでの時間 (Time to peak) とピークからピークの半分に達するまでの時間 ( $T(1/2)$ ) についても調べた (図 11)。するとその両方とも、2 発の脱分極パルスの時間間隔を短くすると短くなった。つまり EPSC の立ち上がりも速くなり、持続時間も短くなった。よって A current の不活性化が起ると、EPSC の増強が起こることは明らかであろうと考えられた。また、A 型 K チャネルの blocker である 4-AP 存在下では、同じ実験で EPSC の増強が殆ど起らないことも確かめられた (図 12)。さらに細胞体の近傍 (図 7, Input2) の樹状突起のあまり出ないところからシナプス入力をした場合にも、EPSC の増強が起きないことが分かった (図 13)。つまり樹状突起の A current の活性化あるいは

不活性化の状態が、出力側のシナプスに影響を与えているということが明らかになった。樹状突起に高密度に存在する A current がシナプス入力信号の統合機構に關与していることが推測された。

しかし、A current の不活性化と EPSC の増強の割合を比較すると (図 14)、A current の不活性化と樹状突起先端からのシナプス入力 (epsc input1) とは弱い相関はあるものの、1 対 1 対応にはなっていない (傾きが異なっていた)。また、4-AP 存在下と細胞体近傍からのシナプス入力 (epsc input2) は、A current の不活性化と相関がみられなかった。実験例数を増やしたり、記録条件をよくしたり、whole cell 条件をよくしたりしても、A current の不活性化と樹状突起先端からのシナプス入力との相関は強くならなかった。よって、A current だけではシナプス入統合機構の説明はできないのではないかと仮説をたてた。しかし、樹状突起上のイオンチャンネルを電気生理学的に調べたが、A current 以外の K チャンネルの記録は難しかった。

Q. 100ms の矩形波は人工的な刺激だが、natural な条件で A current の不活性化はありうるのか。

A. 例えば LTP などを起こした場合にケーブルのコンスタントが変わるかということについては現在検討している。Protein kinase C や protein kinase A で樹状突起の A 型 K チャンネルが modulation を受けるということが分かっており、tetanus 刺激で protein kinase で活性化が起る。よって、生理的な条件下でも A current の modulation は (例えば可塑性が起る時などに) 起こりうるのではないかと考えている。

Q. このように強い刺激条件を選んだのは何故か。

A. 4-AP の実験では、濃度も変化させて実験している。しかし、4-AP は pre-synaptic にある K チャンネルにも感受性があるものが存在するので、樹状突起だけの modulation を評価することができにくいのではないかと考えた。そこであえて、A current の電気的特質だけを考え、脱分極パルスを用いた実験を行った。

### 3 A 型および D 型 K チャンネルを考慮したシナプス信号統合機構のシミュレーション

さらに、樹状突起に A 型 K チャンネルの他に 4-AP に感受性のあるチャンネルが存在するのではないかと考え (D current があるという報告もある Storm et al 1990)、パッチクランプ法で実験してみたが、なかなか記録できなかった。そこで、実験的なアプローチでなく、シミュレーションを使って、A チャンネルの他に例えば D チャンネルが存在した時に、シナプス入統合をつじつまなく説明できるかどうか検討した。使ったシミュレーターは Hines M. 先生作成の neuron というベーシックなソフトである。それをういてまず単一のコンパー

図 1: 長期増強に関する仮説

図 2: Storm et al, 1990

図 3: Hoffman et al, 1997

図 4: Table 7.1 Voltage gated ionic currents in cortical neurons

図 5: パッチクランプ法

図 6: スライスパッチ法

図 7: Materials and Methods

図 8: 結果の図、 control, 4-AP, wash

図 9: interval を変えた実験結果

図 10: EPSC 計測結果

図 11: EPSC の立ち上がりと持続時間の計測結果

図 12: 4-AP 存在下での EPSC の計測結果

図 13: Input2 刺激条件での実験結果

図 14: A current と epsc input2 等を比較したグラフ

トメントモデルを作成し、シナプス入力をした時に、入統合機構とともに EPSP に対してどのようにイオンチャンネルが関与しているかを考えた。樹状突起に A チャンネルが存在するとして、どのよう関与しているのかを調べてみた。実験的なモデルとして  $\alpha$  シナプス型 (EPSP 様) のシナプス入力を起こし、600  $\mu\text{m}$  離れたところで、EPSP がどのように減衰するか調べた (図 15)。Hodikin-Huxley タイプのモデルに従うと考えた場合に (Hodikin-Huxley タイプのチャンネルしか含まないと考えた場合に)、600  $\mu\text{m}$  離れたところでは EPSP の傾きが小さくなり、距離依存的に減衰がおこる (図 16)。このような条件下で、樹状突起にイオンチャンネルを一様に分布させて検討した。特に、4-AP 存在下で A current と D current を設定してシナプス入力の減衰について調べた。[補足：A 型チャンネルは樹状突起の先端に高密度に存在することが知られている。Spine 上にも存在するのではないかと考えられている。チャンネルの密度に濃度勾配をつけてみたが、シミュレーションの結果、我々のモデルではそれはクリティカルな要因ではなかった。海馬の primary culture を使った結果から、A 型チャンネルの濃度ではなく距離に依存した統合がおきることが報告されている。そこで、高密度に存在するということが EPSP の統合にどのような意味をもっているかはまだ分かっていない。]

我々の人工的に作成した A 型 K チャンネルと D 型 K チャンネルのパラメータは、Hodikin-Huxley の式から表 17 のように求め、不活性化と活性化のゲート等の値を決めた。実測で Storm らが報告した細胞体の whole cell 記録の電流の peak の比にあうように、conductivity を設定した。A current は活性化も不活性化もはやいタイプの電流である (図 18)。D current は不活性化がおこりにくいタイプの電流である。これらのチャンネル存在下での EPSP の減衰を調べてみた。その結果、EPSP の減衰には樹状突起に高密度にある A 型 K チャンネルの寄与のほうが大きいと予測していたが、D 型 K チャンネルが存在した条件のほうが A 型 K チャンネルだけの条件より EPSP の減衰が大きいことが分かった (図 19)。さらに、A 型と D 型 K チャンネルが両方存在した時には加算的に EPSP の減衰が起きるかと考えたが、D 型 K チャンネルのみが存在した時と殆ど差がないことも明らかになった。いろいろなパラメータを変えてみたが、D 型 K チャンネルが支配的である状況は変わらなかった (図 20)。そこで、単一シナプス入力があった場合には、D 型 K チャンネルが機能し、A 型 K チャンネルはあまり働かないことが予測された。よって、A 型 K チャンネルの働きのみ阻害しても D 型 K チャンネルが残っているので、実験結果で A current の不活性化と樹状突起先端からのシナプス入力との相関が弱かったのは、そのせいではないかと考えられた。それでは、樹状突起に高密度に存在する A 型 K チャンネルはどのような条件下で働きうるのだろうか。

#### 4 2つの EPSP 入力を加えたときのシミュレーションにおいてみられる A 型と D 型 K チャンネルの役割交替

まず、時間的にずれた EPSP が 2 発入ってきたときに、A current、D current の役割はどうなるだろうか。図 21 に、20 ms の間隔で EPSP を 2 発入れた場合のシミュレーション結果を示す。このシミュレーションでは、表 17 のように、各チャンネルのピークのコンダクタンスはそれぞれ、 $g_{KA} = 0.03 \text{ S/cm}^2$  と  $g_{KD} = 0.05 \text{ S/cm}^2$  である。A 型と D 型が両方ある場合は、この  $g_{KA} = 0.03 \text{ S/cm}^2$  と  $g_{KD} = 0.05 \text{ S/cm}^2$  のコンダクタンスをもつ 2 種のチャンネルを 1:1 で入れている。また、前の実験では 1 発目は矩形のパルスであったが、今回は、より生理的な条件に近いモデルを設定し 2 つとも  $\alpha$  関数を入れている。(前実験では、ポストだけを選択的に抑制するために、インヒビターの代わりに人工的に矩形のパルスを入れていた。)

Passive、すなわちチャンネルを含まない場合には、2 発の EPSP 両方が同様の減衰率で検出される。A 型 K チャンネルまたは D 型 K チャンネルが存在する場合には、1 発目の EPSP (図 21 左側のピーク) では、1 発目のみの EPSP をあたえたときと同じように、A 型に比べて D 型 K チャンネルの減衰の効果の方が非常に大きい。しかし、2 発目の EPSP (右側のピーク) では、D 型に比べて A 型の方の効果が大きくなっていく。両チャンネルを含む場合 (KA and KD) には、1 発目に関しては D 型の場合と同様で、2 発目を含んだ場合には A 型がある場合と同様である。すなわち、時間的にチャンネルの役割分担が逆転する現象がみえている。

この A 型と D 型の役割分担をまとめたのが図 22 である。縦軸に、A 型と D 型がある場合の減衰と、A 型または D 型だけの場合の減衰との比をそれぞれ求め、各イオンチャンネルについて、EPSP のインターバルに対する減衰の効果を検討している。ここで 1 に近い値の方が効果への寄与が大きいと考えてもらいたい。値は、われわれが調べた各パラメータに対しての平均と標準偏差である。‘Single’ は EPSP が 1 発だけ入った場合であり、この場合には D 型 K チャンネルの効果が大きい。短めのインターバル (20 ms, 50 ms) で 2 発目を入れた場合、2 発目に対する効果は、A 型 K チャンネルの方が D 型よりも支配的になり、更にインターバルを 100 ms, 200 ms と長くし、単独の EPSP に近くなってくると、D 型の効果が再び元に戻ってくる。これから、おそらくシナプス入力が 2 発入ってきたときには、D 型 K チャンネルと A 型 K チャンネルが時間的に相補的な役割交替をしながら、2 シナプスの統合機構に関係してくることが予測される。

Q. 直観的に分かりにくいのだが、A current の方が活性化が速いのに、なぜ最初の寄与は D current より小さいのか。

A. 私も直観的には理解できなかった。電気生理学的に I-V 特性 (図 18 右) など調べてみると、D current は、活性化のしきい値が少し低めになっているという特長がある。D current は  $-70 \text{ mV}$  付近から活性化が始まるが、A current は  $-50 \text{ mV}$  ぐ

らいから活性化してくるタイプのチャネルである。これだけですべて説明できるかどうかは不明だが、最初の静かな状態から始まって  $-70\text{ mV}$  ぐらいで 1 発目の EPSP が入ってきたときには、A current が活性化するまで到達できないのではないかと考えている。

- Q. そのとき、小さなコンパートメント内でも 1 発目によってしきい値を越えないのか。
- A. 図 18 は矩形パルスでみている電流である。この特性から考えると、しきい値を越えても、電流の積分値が効果的である。EPSP が入ってきたときの電流値をみると、最初は D がよく流れる。これで脱分極が起こってしまうと、この A current の活性化を引き起こすまではいかないというシミュレーション結果が出ている。図 18 の矩形パルスに対するデータでみると、確かに、A current の活性化は速い。しかし実際には、 $\alpha$  シナプス型の EPSP が入ってきているので、実際どうであるかこれからはそのまま予測はつかない。図 18 のように電気生理学的な方法でみているものとは違う統合をしているように思えるが、いまひとつ明確ではない。
- Q. 最初に D current が流れると、A current の流れに障害をかけるのか。そうだとすると 2 発目では A current の障害はどうなっているのか。
- A. まず 1 発目の EPSP が入ってきたときには、おそらく D current の活性化が A current の活性化に障害をかけ、起こしにくい状態にしている。この状態で D current はもう流れた状態になっているので、さらに脱分極をするような膜電位の変化が起こると、今度は A current の活性化が起こってくるのではないかと考えている。
- EPSP が大きすぎるとか小さすぎるとか、時間経過が長すぎるなど、さまざまな可能性を考え、パラメータを変えてシミュレーションをやっても同じような傾向をしめしている (図 23)。 $\tau$  と  $g_{\max}$  を変えてみると、われわれが調べた範囲の生理的な条件下では、1 発目が D current で 2 発目が A current の方が寄与が大きいという傾向がみられる。
- Q. たまたましきい値付近に 2 つの EPSP が入ったらしきい値の差であるという説明は成り立つが、それ以下だったら、A current とはいえなくなってしまうであろう。また最初から EPSP が大きければ、A current も最初から活性化するのではないだろうか。シミュレーションのパラメータで、ちょうど両チャネルが分離するようになっているのではないか。もし、しきい値の差が原因だとすると、EPSP がある範囲に入ったときしか起きえないが、 $g_{\max}$  の範囲が 20 倍違って同じ傾向の結果がでてくるなら、しきい値の差であるとする推論は間違っているのではないか。
- A. われわれとすれば現在のところ、しきい値の差を考えているが、まだ明確な説明はできない。

- Q. これは、シミュレーションであるので、活性化変数の  $l$  や  $h$  などの変化をみると、チャンネルが活性化してるかしてないかは分かるのではないか。
- A. それはまだ検討していない。
- Q. 2 発目の EPSP で D current が寄与しないのは、D 型 K チャンネルの方の不活性化のリカバリーの時定数が大きいからではないか。A current は不活性化が速いが、D current はそうでもないというデータはないのか。
- A. 図 18 はモデルのデータでしかないが、電気生理のデータでも確かに A currentの方が不活性化は速い。矩形パルスではなく EPSP ライクな入力が入ってきたときの電流応答を調べて見るのはひとつの考え方なのかも知れない。
- Q. 始めの話では、1 発目の所が A 型 K チャンネルの寄与であって、2 発目は D 型 K チャンネルが寄与しているのだと考えていたが、実際には逆転してたということか？
- A. その通りである。シミュレーションと結果が、そのようになるのを期待していたが、 $\alpha$  ライクシナプスに対しては、逆転して出てきた。
- Q. この結果がなぜこうなるのかを解釈するとき、小さな EPSP でも起きているのだから、しきい値の差だけではやはり論理的に説明できないのではないか？
- A. しかし、しきい値もちょうど EPSP が入ってくる微妙なところに 2 つとも位置しているので、下の方でも活性化はまったく起こらないことはないと思う。本当に起こらない場合には、passive な状態、すなわちチャンネルが活性化しないような状態と同じようになるだろう。  
 静止電位は  $-70$  mV であり、両方のチャンネルが図 18 のように活性化してくるので、微妙に D 型 K チャンネルの方が低めに設定されている。よって、1 つの可能性として、しきい値の違いによると考えている。しかし、EPSP が上の方に行ったときにどうなるかという問題があるので、これだけで全部説明できるかは分からない。
- Q. もっと EPSP を上げてみたら、最初から A 型 K チャンネルが活性化することはないのか？
- A. EPSP を上げてくれば、A 型の寄与は、当然、大きくなってくる。
- Q. 図 21 の A current の場合の 2 発目の EPSP に対する応答は長く持続しているように見えるが、これは、A current の不活性化では説明できないのか？
- A. このシミュレーションで、着目しているのは、EPSP の立上りの傾きの変化であり、この傾きが、入力部位と  $600 \mu\text{m}$  離れた出力部位で、どう差があるかについて調べている。

持続時間がどう変わるかについては、現在シミュレーション中であり、この 2 つのチャンネルについて、チャンネルの寄与がやはり違うということを現在検討している。まだトリビアルな段階であり、全体がしっかり固まっていないのでなんともいえないが、A 型 K チャンネルの不活性化が、持続時間に対して影響があるのは間違いない。

## 5 連続した EPSP 入力を与えたシミュレーションにおける安定した伝播

次に、EPSP が同じように多入力、たとえば 20 発連続で入ってきたときに、これらのイオンチャンネルがあると、減衰率に対してどのような効果があるのかを検討した (図 24)。横軸は EPSP の番号を表しており、個々の 20 発について、600  $\mu\text{m}$  離れた所での EPSP の減衰の傾きの変化の平均と分散をしめしている。

EPSP の振幅が小さい場合 (図 24 左) には、A 型および、D 型 K チャンネルの両方がある場合に、十分に安定して EPSP の減衰が起こってくる。しかし、この  $g_{\text{max}}$  が大きく、持続時間が長いものが入ってきたときに、これらのチャンネルが EPSP の減衰に対してどう係わってくるかを調べると (図 24 右)、A 型 K チャンネル単独では、最初の 3 発目ぐらいまでは活性化できるが、ある時間になると、ほとんど働けなくなり、その後また回復する。D 型 K チャンネルだけだと、最初は活性化するが、20 発ぐらいになるとだんだん弱ってくる。ところが、2 種類のチャンネルが同時に存在すると、へたりも少なく安定して EPSP を大体同程度に減衰させている。よって、このような連続した EPSP に対しては、情報がさまざまに入ってきた場合にも、2 つのチャンネルがあると、前歴に係わらず同じように安定して細胞体に伝えるはたらきをするのではないかと考えられる。

Q. どの図でも最初の 3 発目ぐらいで急激に上がってきているが、その部分がずいぶん違う応答しているのはなぜか。

A. 実際の状況では自発的な入力が入ってきているので、反応は上がりきった状態で見ているが、ここでは何もない条件から入っているため、おそらく 3 発目以降で、自発的な状態に対応する状態に入ってきている。よって、変化は 3 発目以降を指標に見ればよいのだと思っている。何も自発的な入力がない条件からスタートした場合は、前の 1、2 発目のシミュレーションと考えてもらえばよい。その場合は 1 発目に対しては D チャンネルが支配的で、短い時間で 2 発目が入ってきた場合は、A 型 K チャンネルが活性化してくるが、時間間隔が 200 ms 過ぎれば D 型 K チャンネルが活性化してくる。それを定常状態に近づけて、何発かの EPSP が入ると、今度はこの両チャンネルが、図 24 のような時間経過で活性化、不活性化をする。すなわち 2 つのチャンネルが両方あると、安定化できる活性化状態を同じように 2 つ相補的にやりうるという不思議なはたらきをしている。

図 15: 単一コンパートメントモデルの図

図 16: EPSP が距離依存的に減衰した結果

図 17: 表: Parameters for the conductance of KA and KD channels

図 18: A-type K channel と D-type K channel

図 19: シミュレーション結果

図 20: KA, KD, KA+KD 条件で  $g_{\max}$  をいろいろに変えた結果

図 21: 2 発の EPSP に対して 'Passive'、'KA'、'KD'、'KA and KD' の場合の 4 つの反応が記された図

図 22: 'KA channels' EPSP interval 対  $KA/(KA + KD)$ 、および 'KD channels' EPSP interval 対  $KD/(KA + KD)$  が記された棒グラフ

図 23: インターバルを 20 ms、50 ms、200 ms と変化させたときの、KA、KD、KA and KD の各チャネルの組合せによる  $g_{\max}$  対 Decrease の関係を 4 種の  $\tau$  (= 10 ms、20 ms、40 ms、60ms) に関する 9 つの図

- Q. ここで扱っているのは K チャネルなのでこのとき電流は外部に流れ、内部で活動電位がでたときも再分極する。そうすると入力積分してくるようなイメージをもつのだが、むしろ特定の時間領域のようなものが活性度を上げたり下げたりコントロールしているということなのか。
- A. いわゆる自己情報量は当然積分形では伝わらないので、積分したものは本質的に意味がなく、個々のパルスの個別性に意義があると考えている。そう考えるならば、おそらくこの系では、個々の EPSP がいつも同じ情報をもつものとして入ってくるという情報の安定性の方が意味があるのだと考えている。  
このシミュレーションでは、生物学的というよりも物理学的な情報として 2 種類のチャンネルがあることがどのくらい意味があるかを問うた。平均をとり、すなわち積分値で計算すると、両方のチャンネルがあっても、まったく同じことになってしまう。しかし分散を調べれば、その分散が小さい方が安定な情報表現ができていることになる。20 発入ってきた情報に対して、情報表現がどのくらい安定かをみると、2 種類のチャンネルがある方が分散小さくなっている (図 25)。
- Q. コインシデンスが制御するのかについて聞きたい。
- A. そこについてはまだ検討していない。
- Q. なぜ 2 つのチャンネルがあると小さくなるのか。
- A. おそらく、図 24 から推論すると、 $0.03 \text{ S/cm}^2$  と  $0.05 \text{ S/cm}^2$  のイオンチャンネルの比が、非常にいい比になっているためだと考えている。この比では、A current がはたけなくなっても D current ははたけ、逆に D current が調子悪くなると、A current が元に戻るといのように、互いに、イオンチャンネルが協調的、相補的にはたけようになっていると考えている。
- Q. このシミュレーションでは、入力パターンをたとえばずらすなど、いろいろ変えてみることができるであろうが、入力の分布を変えてもそれはいえることなのか。
- A. このシミュレーションでは、パルス幅は、テタニックな刺激を模倣する意味で、10 ms の間隔は固定であるが、 $g_{\max}$  と  $\tau$  とを変化させることで、EPEP の立ち上がりの傾きと持続時間は変化させてみている。 $\tau$  は 5–15 ms、 $g_{\max}$  は 0.01–0.04 の範囲で調べているが、同様の結果を生み出している (図 25)。  
 $g_{\max}$  大きくなると、チャンネルが開きやすい状態が出てくる。生物学的にどうかはわからないが、情報を処理する立場では、これが安定して相補的にはたけうるようなシステムになる。

## 6 LTP の ES potentiation における active dendrite の影響の可能性

LTP は海馬の場合、有名な電気生理現象だが —それが、記憶の model かどうかは別にして— LTP を引き起こすときのようなはげしい高頻度の電気刺激をしたときに、樹状突起の電気的な特性が変わるか変わらないかを調べてみた。

よく知られているように LTP は、高頻度の刺激をすると EPSP の大きさが大きくなる現象であり、その中に連合性、可算性などの性質があるが、シナプスだけでは説明できない現象が 1 つある。それが ES potentiation (EP potentiation) という現象である。E は EPSP で、S または P は population spike を意味しており、LTP を起こしたときの EPSP の増加率と population spike の増加率とを比べると population spike の増加率の方が大きくなるという現象である。これは、シナプスのレベルだけではなかなか説明がつかない。そこでまだ preliminary な段階だが、LTP で樹状突起の性質が変わることによってこのような変化が起こるかを調べてみたので紹介したい。

海馬からスライスを作り (図 26)、CA3 から CA1 に入るシナプス入力に対して、EPSP の大きさの減衰の仕方がどのように変わるかを調べた。電極 1 本では減衰の変化がなかなかよくわからないので、多点同時記録によって樹状突起の性質がどう変わっているかを、マクロに調べている。多点同時記録には図 27 の MED probe を用いた。これは、中央部にマルチ電極の皿があり、そこに slice を乗せて電気記録をする。刺激を図 28 右図黒四角の一段下にあたえ、1, 2, 3 と記された点からフィールドの EPSP を記録した。このとき、図 29 A の E-1, E-2, E-3 のように、それぞれ 150  $\mu\text{m}$  ずつ離れた樹状突起から EPSP を記録していることになる。

図 29 B の青線がテタヌス刺激をかける前で、E-1 から E-3 へと EPSP が減衰する。一方、100 Hz、1 s のテタヌス刺激を行ない LTP を出すと、文献で知られているようにフラッターが大きくなっていく。各 3 点における EPSP の減衰率を調べ、テタヌス刺激をかける前とかけた後でそれが変わるか変わらないかを調べる方法で、樹状突起での電気的な信号の伝達特性が変わりうるかどうかを調べた。図 30 は約 5 枚のスライスの平均であり、E-1 がシナプス入力に近い部位である。左下図の斜線の部分の傾きの変化を使って LTP のでかたを各記録電極ごとに調べると (右図)、E-1 では、EPSP の傾きは約 2.0 倍ほどに大きくなっている。これは、E-2 では 2.2 ~ 2.3 倍で、E-3 は 2.5 倍であった。すなわち、距離が離れば離れるほど EPSP の増加率は、大きくなっていく。この傾きを各 3 点についてプロットした (図 31)。3 点とただただなので、なんともいえないが、距離に指数的に依存的に依存して EPSP の傾きが小さくなるような傾向をしめしている。

もしかすると、LTP が起きたときに、先のようなイオンチャネルの相関が起こって、電気生理的な特性も生理的に変わりうるのではないかという方向で研究を進めていきたいと考えている。

- Q. 細胞外記録では興奮性の細胞内の電位変化はネガティブにできるので、興奮性の下向きの方向の傾きをみているのか。
- A. そうである。フィールド EPSP なので、ネガティブに出る。  
図 32 のように NMDA 受容体のブロッカーである APV を入れてもそれほどブロックされないが、AMPA 受容体のブロッカー CNQX を入れると、ほとんどブロックされ、TTX を入れると最初のプレシナプティックな過分極も消える。よって、測定している下向きの傾きは、グルタミン酸受容体の EPSP をモニターしていることになる。
- Q. これは、1 つの細胞の記録とみていいのか、それとも複数の細胞の記録か。
- A. もちろん複数の記録であるが、海馬は層構造になっており、樹状突起がまっすぐに並んでいるので、細胞体全体の性質をモニターしていると考えている。
- Q. A current で EPSP の形が変わることをより厳密に調べるのに、おそらく、高周波成分がより大きく落ちていると思われるので、傾きという指標よりも周波数で分析した方がいいのではないか。
- A. 今度やってみたいと思う。
- Q. 確認したいが、細胞体と樹状突起では A current は、どちらが多いのか？ また D current はどうか？
- A. A current については、樹状突起の先端に行けば行くほど高密度に存在することが報告されている。パッチクランプ法で測定すると、細胞体と 300  $\mu\text{m}$  離れた樹状突起とでは密度で約 4 倍樹状突起の方が多。D の方は、ほとんど密度に変化がないことが報告されている。
- Q. 資料 4 ページにケーブル定数  $\lambda$  というパラメータが変化すると考えられるとしてあるが、 $\lambda$  の物理的な実体とは何か。
- A. たとえば、可能性とすると、樹状突起の形態、膜の物理的特性、イオンチャネルの 3 つが考えられる。すべての可能性を検討しなければならないが、まず樹状突起のイオンチャネルは、比較的チェックしやすいので、いま第 1 の可能性として調べている。しかしたとえば、形態や膜の物理的な性質が変わるといった可能性もある。
- Q. Active dendrite という、一般的には、樹状突起でスパイクが生じる話が多いが。
- A. 海馬の場合は back propagation の活動電位、すなわち入力信号が入ってきた後に、細胞体から戻ってきてスパイクが出る性質がある。樹状突起の性質上、最初の入力部位で入力した段階では活動電位は出ない。そこで最初に入力が入ってきて、その後ど

のように活動電位まで到達するかの橋渡しのデータがないかと思い、研究している。  
当然、back propagation も面白い現象ではあるが、それは次のステップと考えており、まだそこまでは到っていない。

図 24: KA、KD、KA+KD の各チャンネルの組合せと、2 種の  $\tau$ 、 $g_{\max}$  の組合せ (それぞれ 5 ms、0.02 S および 15 ms、0.03 S) における 20 発の連続した EPSP 入力に対する減衰率の変化をしめす 6 図

図 25: ‘シナプス信号の減衰率の分散’ と題された KA、KD、KA+KD の各チャンネルの組合せについての、 $g_{\max}$ 、 $\tau$  に対する分散をしめす 3 つの 3 次元グラフ

図 26: ‘Fig. 1 Brain Slices、Hippocampus’ と題された、脳の写真 3 枚と海馬スライスの模式図

図 27: ‘Fig. 3 MED system components’

図 28: ‘Fig. 4 Hippocampus on MED’ (図の黒四角の位置は誤り。本文参照)

図 29: ‘Fig. 9 Simultaneous Recordings from Three Electrodes’

図 30: ‘Fig. 10 Dynamical Changes on Evoked Responses’

図 31: ‘Fig. 11 Curve Fitting to a Single Exponential Curve’

図 32: (‘Fig. 7 Pharmacological Experiments’ A)