

計算機-生体ハイブリッド神経回路を用いた病態脳における異常な情報伝達機構の解明

東京女子医科大学 医学部 助教 竹内雄一

[研究の概要]

病態時における異常なシナプス伝達が、脳内神経細胞をどのように発火させ、疼痛などの症状を生じるのかは分かっていない。そこで本研究では、計算機-生体ハイブリッド神経回路(ダイナミッククランプ法)の実験系を構築し、シミュレーションにより再構築した病態時のシナプスコンダクタンスを生きた神経細胞に注入して、その影響を検討することを目的とした。現在、専用ソフトウェア SM2 の導入、SM2 言語による内因性膜・シナプスコンダクタンスの記述に成功しているが、ハードウェア(DSP ボード)のトラブルにより、実験系の完全構築には至っていない。今後、新規 DSP ボード用に SM2 ソフトウェアをバージョンアップして生体で検討を進めることが望まれる。

[研究経過および成果]

緒言

末梢神経切断により、脳内視床核の神経細胞は複数の新たな求心性線維入力(S-、W-線維)を受けるようになる(図1)¹⁾。新規入力線維の形成するシナプスでは伝達物質の受容体構成が通常と異なるが、このような異常なシナプス特性がシナプス後部の神経発火にどのような影響を与えるかは分かっていない。そこで本研究では、まず計算機-生体ハイブリッド神経回路(ダイナミッククランプ法)^{2,3)}の実験系を構築し、その影響を検討することを目的とした。

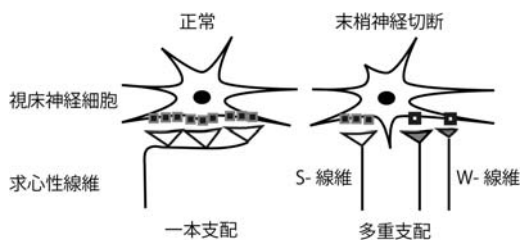


図1. 末梢神経切断による求心性線維多重支配化

材料・方法

ダイナミッククランプシステム: ダイナミッククランプシステムとして、イオンチャンネル特性記述の自由度が高く、かつリアルタイム性に優れた SM2 システム(Cambridge Conductance)を用いた⁴⁾。パッチクラン

プアンプとして Multiclamp700A(MDS)、データ取得用ハードウェア・ソフトウェアとして、ITC-18(HEKA)・IgorPro(Wavemetrics)をそれぞれ用いた(図2)。

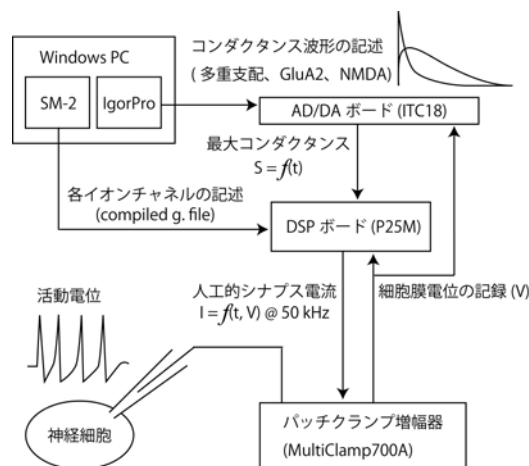


図2. SM2 および IgorPro ソフトウェアを用いたダイナミッククランプ法模式図

視床神経細胞モデルの構築・記述: 細胞膜等価回路に、内因性膜コンダクタンスおよびシナプスコンダクタンスを SM2 言語により記述・導入した(図3)。

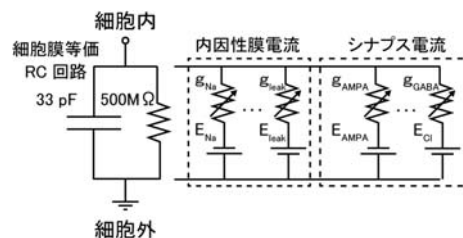


図3. 視床神経細胞等価回路

結果

ダイナミッククランプ法システムの導入・開発: ダイナミッククランプ法専用ソフトウェア SM2 を購入・導入し、刺激・データ取得制御環境である IgorPro ソフトウェアの設定(発表論文)を SM2 用書き換えた(図4)。

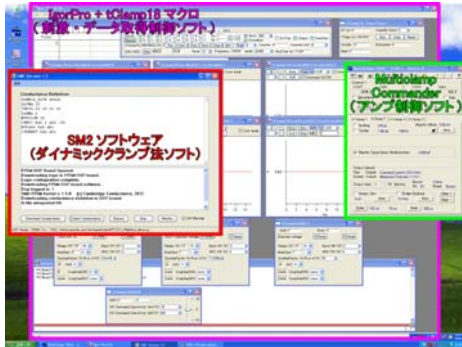


図 4. SM2 ダイナミッククランプ法実験環境

視床神経細胞モデルの構築: 単純な RC 回路(図3)に視床神経細胞の膜特性を付与してモデル神経細胞として用いるため、Rhodes および Llinás らの論文⁵⁾にしたがって電位依存性 Na チャネル、遅延整流性 K チャネル、T 型 Ca チャネル、過分極誘発陽イオンチャネル、シナプス外 GABA_A 受容体のコンダクタンス他を、SM2 言語で記述・導入した。

シナプスコンダクタンスの構築: 電位依存性および非依存性 AMPA 受容体、NMDA 受容体、および GABA_A 受容体を介するシナプスコンダクタンスを構築した(図5)。その際、コンダクタンスのキネティクス、電位依存性、ピーク値、および AMPA 受容体/NMDA 受容体比は、Takeuchi らの実測値を基にした¹⁾。

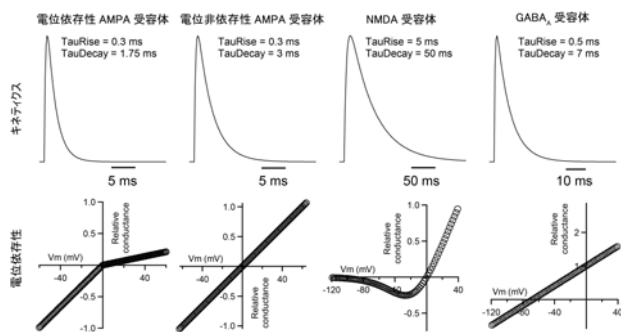


図5. 視床神経回路内シナプスコンダクタンスの構築

求心性シナプス入力パターンの作成: 求心性シナプス入力パターンは入力頻度の逆数がポアソン分布に従うように作成した(図6)。

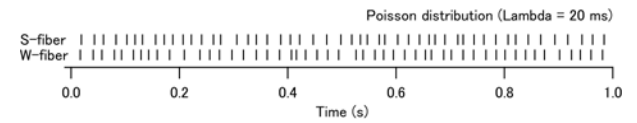


図6. 求心性シナプス入力パターンの例

病態時の視床における異常な情報伝達の解析: 構築したモデル神経細胞に、病態時を模したシナプスコンダクタンスを注入し、その発火特性を検討しようとしたが、未だシステムが上手く動作していない。

考察

システムの動作不良は、販売中止に伴いやむを得ず中古で購入した DSP カードの故障による可能性が高い。現在、National Instruments 社 X シリーズ DAQ カード用に新バージョン SM2 の開発が進んでいるので、引き続き開発者と密に連絡を取って、要望を伝える必要がある。X シリーズを用いた実験環境を整えたところで、生体での実験に移行したい。

参考文献

- (1) Takeuchi, Y., et al. (2012) J Neurosci 32, 6917-6930.
 - (2) Robinson, H.P. & Kawai, N. (1993) J Neurosci Methods 49, 157-165.
 - (3) Sharp, A.A., et al. (1993) J Neurophysiol 69, 992-995.
 - (4) Robinson, H.P. (2008) J Neurosci Methods 169, 271-281.
 - (5) Rhodes, P.A. & Llinás, R. (2005) J Physiol 565, 765-781.
- [発表論文]
Takeuchi, Y., et al. (2014) J Neurosci 34, 1258-1270.