

脳には膨大な数の神経細胞があり、それらが互いにつながり合い、複雑な神経回路をつくっている。その神経回路を信号が巡り、情報処理されることで、さまざまな機能が生まれる。「神経回路は固定されたものではなく、生後の発達や環境に応じて変化します。神経回路がどのように変化することで情報の処理効率を変え、適切な機能を生み出しているのか、そのメカニズムの解明を目指しています」と脳科学総合研究センター（BSI）大脳皮質回路可塑性研究チームの津本忠治チームリーダー（TL）は言う。ターゲットは視覚だ。津本TLは、多数の神経細胞の活動を、種類を区別して同時に観察できる2光子励起カルシウムイメージング法を遺伝子改変動物に適用。2014年にはそれを駆使して、目覚めているときに感覚が鋭くなる神経回路の仕組みを明らかにした。

覚醒しているときに、なぜ感覚が鋭くなるのか？

■ 神経細胞の情報伝達

目から入った光の情報は、網膜にある視細胞が受け取り、電気信号に変換される。その電気信号が視神経を経て大脳の後頭葉にある視覚野に運ばれ、神経細胞が反応することで、明暗や色、形などが認識される。ヒトの脳全体には約

1000億個、大脳皮質には約150億個の神経細胞があり、複雑な神経回路を形成している。視覚野の神経回路がどのように動作することで情報を処理し、認識しているのか。そのメカニズムを明らかにすることが、津本TLの研究テーマだ。神経細胞はどのように情報を伝えている

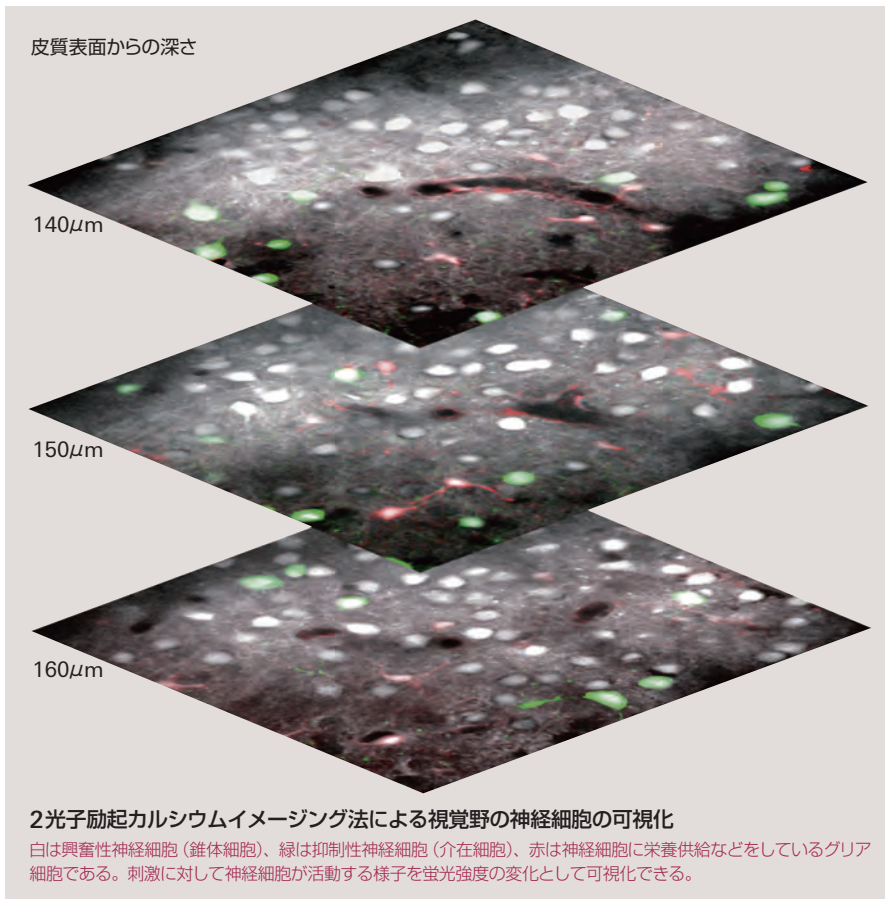
のだろうか。神経細胞は、核がある細胞体から長い軸索といくつにも分岐した短い樹状突起が出ていて、それらがほかの神経細胞とつながっている。樹状突起は情報を受け取る入力装置、軸索は情報を送る出力ケーブルだ。

情報は、軸索の中を電気信号として伝わる。しかし、シナプスと呼ばれる軸索の末端と次の神経細胞の細胞体や樹状突起との間には数万分の1mmほどの隙間があり、電気信号はそこを跳び越えることができない。シナプスまで電気信号が伝わると、神経伝達物質と呼ばれる化学物質が分泌される。その伝達物質が次の神経細胞の表面にある受容体に結合すると、電気信号が生じるのだ。

大脳皮質の神経細胞は、主に2種類だ。細胞体が錐体形で軸索が長い錐体細胞と、細胞体の多くが星のような形で軸索が短い介在細胞である。シナプスから放出する神経伝達物質も違う。錐体細胞はグルタミン酸を放出してほかの神経細胞を興奮させ、介在細胞はガンマアミノ酪酸（GABA）を放出してほかの神経細胞の興奮を抑制する。それ故、錐体細胞は興奮性神経細胞、介在細胞は抑制性神経細胞とも呼ばれている。

■ 多数の神経細胞の活動を同時に記録

脳の情報処理のメカニズムを解明するには、神経細胞の活動を調べる必要がある。1950年代から使われているのが、先端が非常に細い電極を脳に刺して神経細胞が活動したときの電位変化



津本忠治 (つもと・ただはる)

脳科学総合研究センター
大脳皮質回路可塑性研究チーム
チームリーダー

1942年、富山県生まれ。医学博士。大阪大学医学部医学科卒業。同大学医学部助手、西ドイツ（当時）マックスプランク生物物理化学研究所研究員、金沢大学医学部助教授、米国カリフォルニア大学バークレー校客員研究員、大阪大学医学部教授などを経て、2005年より理研脳科学総合研究センターユニットリーダー。2009年より現職。2005～10年に日本神経科学学会会長を務める。



を記録する微小電極法だ。

「微小電極法は、脳科学の発展に大きく寄与してきました。しかし、1回に1個からせいぜい数個の神経細胞の活動しか記録できません。脳における情報処理は、多数の神経細胞から成る複雑な神経回路で行われています。数個の神経細胞の活動だけを調べても、情報処理のメカニズムはほとんど分かりません」と津本TLは指摘する。

「多数の神経細胞の活動を同時に、しかも細胞の種類を区別して調べること。それが、私たちの大きな目標でした。そして2007年、2光子励起カルシウムイメージング法を用いて、多数の神経細胞の活動を同時に、しかも興奮性と抑制性を区別して観察することに世界で初めて成功しました」(タイトル図)

「2光子励起カルシウムイメージング法を実験動物に応用するには、とても苦労しました」と津本TL。まず、抑制性神経細胞だけで緑色蛍光タンパク質(GFP)が発現するように遺伝子を改変したマウスに着目した。蛍光顕微鏡で観察すれば、抑制性神経細胞だけを可視化できる。しかし、神経細胞の活動は分からない。そこで、カルシウムイオン(Ca²⁺)蛍光指示薬に注目。神経細胞が活動すると細胞内のCa²⁺濃度が上昇する。Ca²⁺蛍光指示薬は、Ca²⁺と結合すると白色の蛍光を発するものだ。

「遺伝子改変マウスの脳内にCa²⁺蛍光指示薬を注入して蛍光顕微鏡で観察すれば、抑制性は緑、興奮性は白と色分けして、それぞれの活動を蛍光強度の変化として可視化できると期待しまし

た。顕微鏡の視野に入る数百個の神経細胞を同時に観察できます。ところが、Ca²⁺蛍光指示薬とGFPの蛍光同士が干渉してしまい、うまくいきませんでした。諦めずに試行錯誤を繰り返し、新しいCa²⁺蛍光指示薬を使うことで、ようやく干渉の回避に成功したのです」

蛍光顕微鏡は2光子励起走査型を使う。従来の蛍光顕微鏡では、1個の蛍光分子が1個の光子を吸収して励起状態になって発する蛍光を捉える。2光子励起型では、1個の蛍光分子が2個の光子を同時に吸収して励起状態になる。励起光の波長は1光子励起の約2倍だ。波長が長いと散乱が少ないため励起光が深くまで届き、深部を高解像度で観察できる。焦点位置を徐々に深くしていけば、立体的なイメージングも可能だ。

津本TLは早速、2光子励起カルシウムイメージング法を用いて視覚野の神経細胞の活動を調べた。具体的には、麻酔をかけたマウスの眼前にディスプレイを置いて、さまざまな傾きのしま模様の画像を映し、神経細胞の活動を観察した。麻酔状態では意識はないが、目を開いていれば光の情報が視覚野に伝わり、神経細胞は活動する。視覚刺激にさまざまな傾きのしま模様を使ったのは、視覚野の神経細胞には方位選択性といって特定の傾きの輪郭にしか反応しない性質があることが知られているからだ。

実験の結果、興奮性神経細胞は特定の傾きのしま模様だけに強く反応した。一方、抑制性神経細胞は、どの傾きのしま模様に対してもほぼ一様に反応した。つまり、興奮性神経細胞は方位選

択性が非常に強いが、抑制性神経細胞は方位選択性を持たず、反応に大きな違いがあることが明らかになった。

■ 覚醒によって神経細胞の反応が変化

津本TLらは最近、2光子励起カルシウムイメージング法を用いて新たな実験を行った。「物の見え方は、目覚めていて意識があるかどうかや、特定の対象に注意を払っているかどうかによっても変わります。覚醒しているときや注意を払っているときは、感覚が鋭敏になります。覚醒や注意によって神経回路の情報処理機能が変わるのでしょうか。変わるとすれば、どのように変わるのでしょうか。まず覚醒で感覚が鋭敏になる仕組みを明らかにすることを目指しました」

抑制性神経細胞だけでGFPが発現する遺伝子改変ラットの脳内にCa²⁺蛍光指示薬を注入し、麻酔をかけておく。そして、ラットの眼前のディスプレイにしま模様の画像を映し、意識がない麻酔状態から麻酔が切れて意識がある覚醒状態に移るときに、視覚刺激に対する神経細胞の反応がどう変わるかを観察した(図1左)。覚醒したかどうかは、脳波で判定できる。

実験の結果、覚醒すると抑制性神経細胞の反応が大きくなることが分かった。興奮性神経細胞は一見すると変化がないようだが、詳細に解析すると、反応の大きさは変わらないが反応の減衰が速くなることが明らかになった(図1右)。「覚醒によって、抑制性神経細胞と興奮性神経細胞の反応が変わることが分か

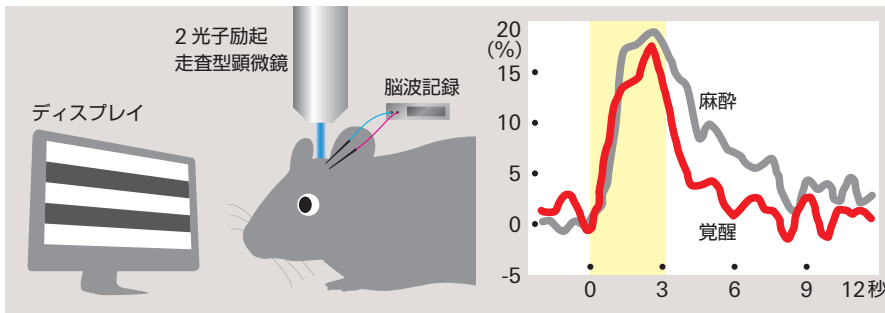


図1 覚醒時の視覚刺激による興奮性神経細胞の反応

左は、2光子励起カルシウムイメージング法の実験の模式図。眼前のディスプレイに映ったしま模様をさまざまな方向に動く。右は、視覚刺激に対する興奮性神経細胞の反応。麻酔状態から覚醒状態に移ると、興奮性神経細胞は反応の減衰が速くなる。黄色の部分は視覚刺激を与えた時間で、縦軸は反応の強さを示す。

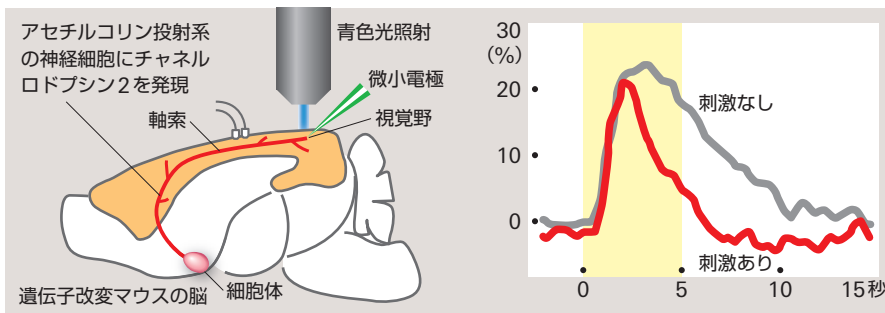


図2 アセチルコリン投射系刺激による興奮性神経細胞の反応

左は、光遺伝学を用いた実験の模式図。麻酔状態にある遺伝子改変マウスの脳に青色光を照射してチャンネルロドプシン2が発現しているアセチルコリン投射系の神経細胞だけを活性化。右は、微小電極を用いて記録した興奮性神経細胞の反応。アセチルコリン投射系を刺激すると、興奮性神経細胞は反応の減衰が速くなる。

りました。では、どのような仕組みで反応が変わるのだろうか。それを明らかにするため、別の実験を行いました」

■ 光遺伝学で神経細胞の活動を制御

津本TLが目にしたのは、アセチルコリンという神経伝達物質を放出する神経細胞である。その細胞体は前脳基底核にあり、大脳皮質のさまざまな場所に長い軸索を伸ばしていることからアセチルコリン投射系と呼ばれている。「覚醒による脳機能の変化にはアセチルコリンの放出が関わっているのではないかとわれていたのですが、詳細は不明でした。そこで、アセチルコリン投射系を刺激すると視覚野の神経細胞の反応がどのように変わるかを調べてみることにしました。問題は、どのようにアセチルコリン投射系を刺激するかでした」

前脳基底核は脳の深い位置にある。電極を刺して電流を流す方法もあるが、ほかの神経細胞も刺激してしまうため、アセチルコリンと覚醒との関連が分からなくなってしまう。その問題を解決したのが、遺伝子工学と光の技術を融合し

た光遺伝学である。

まず、アセチルコリン投射系の神経細胞だけでチャンネルロドプシン2というタンパク質が発現するように、マウスの遺伝子を改変する。その脳に青色光を照射すると、チャンネルロドプシン2のチャンネルが開いてイオンが移動し、その神経細胞だけが活性化。しかもチャンネルロドプシン2は細胞体だけでなく、大脳皮質に伸びた軸索にも発現しているため、光を脳の表面に照射すれば神経細胞を活性化できる(図2左)。チャンネルロドプシン2の代わりにハロロドプシンを発現させて黄色光を照射すれば、その神経細胞だけの活動を抑制できる。神経細胞の活動を容易に制御できる光遺伝学は、神経回路の機能解析に役立つことから近年、大変注目されている。

■ 覚醒で感覚が鋭敏になる仕組み

津本TLは、麻酔をかけた遺伝子改変マウスの脳に青色光を照射してアセチルコリン投射系を活性化し、視覚野の神経細胞の活動の変化を調べた。「抑制性

細胞は反応が大きくなり、興奮性細胞は反応の大きさは変わらず減衰が速くなりました(図2右)。麻酔状態から覚醒状態に移ったときの变化と同じです。これは、覚醒による脳機能の変化にはアセチルコリン投射系が関与していることを明確に示す初めての証拠です」

さらに脳を薄く切り出して詳しく調べ、覚醒時の視覚刺激に対する神経回路が明らかになった(図3)。覚醒時には、前脳基底核のアセチルコリン投射系が活性化し、抑制性神経細胞の視覚刺激に対する反応を増大させる。その結果、興奮性神経細胞の反応が抑制される。ただし、抑制性神経細胞による興奮性神経細胞の抑制は時間遅れで働くため、興奮性神経細胞の反応の大きさは変わらず減衰のみが速くなるのだ。

「アセチルコリン投射系は抑制性と興奮性、両方の神経細胞を活性化すると考えていたので、この結果は驚きでした。しかしよく考えると、興奮性神経細胞の反応の減衰が速くなるというのは、感覚の鋭敏化にとって理にかなっています。神経細胞は反応しているときに次の刺激が来ても、反応できません。反応が速く減衰することで、次に来る刺激に反応しやすくなり、感覚が鋭敏になるのです」

今回の成果は、覚醒によって活性化される感覚を鋭敏にする回路が存在すること、そしてその回路の仕組みを明らかにした画期的なものだ。「今後は、注意を払うことによっても同じ感覚鋭敏化回路が働くのかを明らかにしていきます。覚醒は麻酔で制御できますが、注

関連情報

- 2014年7月23日プレスリリース
「覚醒や注意が感覚を鋭くする脳回路を解明」
- 2010年1月27日プレスリリース
「脳発達の「臨界期」が終了した後も変化する神経細胞群を発見」
- 2007年2月21日プレスリリース
「動きの異なる脳細胞の活動を色分けして観察することに成功」

意を払っているかどうかは制御が難しく、実験方法を検討しているところです」

■ 可塑性のメカニズムに迫る

「神経回路は固定されたものではありません。環境に応じて神経回路が変化することで、処理効率を調整しているのです。神経回路の変化は、特に生後の発達期に顕著に見られます。今回は詳しく紹介しませんが、臨界期の可塑性のメカニズムについても研究を進めています」

生後、神経回路が集中的につくられた

り回路の再構成が起きたりする時期があり、臨界期と呼ばれている。例えば、生後初期に片目を一時的にふさいでみると、視覚野の神経細胞がその目から入った光刺激に反応しなくなることが、ネコやマウスの実験で知られている。そのように神経細胞の反応が変化する性質は可塑性と呼ばれ、可塑性は臨界期を過ぎると失われると考えられてきた。津本TLはマウスで片目をふさぐ実験を行い、興奮性神経細胞は臨界期を過ぎると可塑性をほとんど失うが、抑制性神経細胞は臨界期を過ぎても可塑性を保持し

ていることを明らかにした。臨界期についての常識を覆す成果である。「2種類の神経細胞の違いを追究することで、可塑性のメカニズムを解明しようとしています」と津本TL。「可塑性や感覚の鋭敏化、方位選択性などを生み出しているのは、主に抑制性神経細胞だと考えています。視覚野の神経細胞は約80%が興奮性で、抑制性は約20%しかありません。少ない数で情報処理を制御する仕組みをぜひ明らかにしたいですね」

津本TLは「新しい技術がないと新しい発見はない」との考えから、これまでも最先端の技術を取り入れたり、組み合わせたりして、視覚神経回路の解明を進めてきた。さらなる解明のためには、どのような技術が必要なのだろうか。

「抑制性神経細胞は、数種類あります。それを区別して観察したいですね。また、光遺伝学はますます重要になるでしょう。光の照射によってチャネルロドプシン2を発現している不特定多数の神経細胞が活性化されてしまいますが、1個あるいは狙った数の神経細胞だけを活性化できるようにしたい。さらに、脳を露出させたり体を傷つけることなく神経細胞を活性化できる技術も必要です」

視覚神経回路の情報処理メカニズムを解明できる日は来るのだろうか。津本TLは即答した。「BSI、そして理研には、蛍光タンパク質、遺伝子改変、レーザーなどさまざまな技術の専門家がありますし、最先端の装置もあります。その環境を活かせば、遠くない将来、視覚神経回路をひもとくことは可能でしょう」

(取材・執筆：鈴木志乃/フォトンクリエイト)

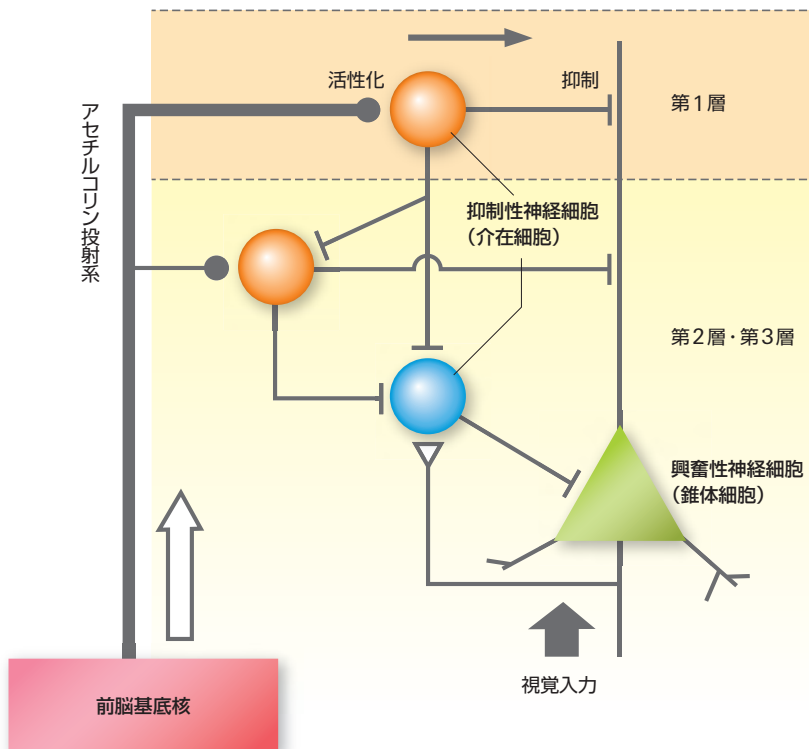


図3 覚醒による視覚反応の鋭敏化とその神経回路

覚醒によって前脳基底核のアセチルコリン投射系が活性化される。放出されたアセチルコリンが主に視覚野の大脳皮質第1層の抑制性神経細胞を活性化する。活性化した抑制性神経細胞は、興奮性神経細胞の視覚入力に対する反応を抑制する。興奮性神経細胞を抑制する回路は時間遅れで働くため、興奮性神経細胞の反応の大きさは変わらず、減衰が速くなる。反応の減衰が速くなると次の刺激に反応しやすくなり、感覚が鋭敏化する。