

## 細胞質内振動現象のモデリング

### Modeiling of Cytosolic Osillation

北嶋 龍雄\*      ○木村 郁子      澤井 有紀

Tatsuo Kitajima      Kimura Ikuko      Sawai Yuuki

山形大学工学部 応用生命システム工学科 〒992-8510 山形県米沢市城南 4-3-16

\*E-mail : kitajima@yz.yamagata-u.ac.jp

あらまし ワーキングメモリーは脳で処理された情報を短期間保持するプロセスであるが、そのメカニズムは明らかではない。海馬傍回の嗅内皮質神経回路網において観測される持続発火活動は、記憶の獲得・固定・想起機能に重要な役割をもつことが示唆されている。近年、Egorov らは嗅内皮質V層のスライス実験から、神経細胞はパルス入力を受けるたびに段階的に発火活動が変化し、振動状態を保持すること、振動周波数は入力の振幅、時間幅に依存すること、および  $Ca^{2+}$  依存性陽イオンチャネルが重要な役割をもつことを明らかにした。本研究では、シナプス後膜上に代謝調節型受容体、膜電位依存性  $Ca^{2+}$  チャネル、 $Ca^{2+}$  依存性陽イオンチャネル、また、シナプス後部内の小胞体膜上に IP3 (イノシトール 3 リン酸) 受容体が存在する神経細胞モデルを構築し、計算機シミュレーションにより、外部刺激入力による細胞質内  $Ca^{2+}$  濃度変化が細胞質内持続振動現象にどのように関与するかを明らかにする。

キーワード      ワーキングメモリー、段階的持続振動、 $Ca^{2+}$  依存性陽イオンチャネル、代謝調節型受容体チャネル、小胞体、IP<sub>3</sub>

#### 1. まえがき

ワーキングメモリーは、脳で処理された情報を短期間保持するプロセスである。一般に脳内神経回路網内に存在すると考えられている反響回路によりワーキングメモリー機能が生じると考えられているが、そのメカニズムは不明である。従来、神経細胞の海馬傍回の嗅内皮質神経回路網で観測される持続振動は、記憶の獲得・固定・想起に重要な役割をもつことが示唆されている。たとえば、嗅内皮質の前部等から多数のアセチルコリン投射を受けており、アルツハイマー病はコリン作動性機能不全と嗅内皮質機能不全に起因することが明らかにされている。

近年、Egorov ら (2002) は、嗅内皮質V層のスライスを用いた電気生理実験により、神経細胞からの電位記録を行い、シナプス入力を遮断した場合にもステップ状の電流パルス入力を与えることにより、細胞質内で段階的に周波数が増加あるいは減少する持続振動現象が見

られることを明らかにした。持続振動周波数はパルス入力振幅あるいはパルス時間幅に依存すること、およびムスカリン型アセチルコリン受容体の活性が重要な役割をもつこと、さらにシナプス後膜上の  $Ca^{2+}$  依存性陽イオンチャネルが重要な役割をもつことも明らかにした。<sup>①</sup>

Egorov らの実験結果は、従来、外部からの刺激入力による情報は神経回路網内の持続振動により保持されているという考えとは異なり、単一の神経細胞でも外部からの刺激入力情報を持続振動の形で保持する機能をもつことを示しており、長期記憶につながるワーキングメモリー機能を解明する上で大変興味深い現象である。

筆者らはすでに、海馬神経細胞で見られるシナプス可塑性、とくにシナプス前部とシナプス後部への入力タイミングにより生じる STDP (Spike Timing Dependent Plasticity) のメカニズムを組み込んだ神経細胞モデルを構築しているが、本研究では、細胞内に小胞体もち、

細胞後膜上に代謝調節型受容体、膜電位依存性  $Ca^{2+}$  チャンネル、 $Ca^{2+}$  依存性陽イオンチャンネル、小胞体膜上の  $IP_3$  受容体をもつ神経細胞モデルを構築する。計算機シミュレーションにより、外部パルス入力を与えることにより細胞内に生じた膜電位振動現象がどのような特性をもつかを明らかにする。

## 2. モデル

細胞質内の膜電位振動現象には、細胞質内  $Ca^{2+}$  濃度変化が重要な役割をもっている。 $Ca^{2+}$  は細胞質内へ細胞膜上の膜電位依存性  $Ca^{2+}$  チャンネルを介して細胞外から入り、また、シナプス後細胞内の小胞体膜上に存在する  $IP_3$  受容体チャンネル ( $IP_3R$ ) を介して小胞体内からは入る。以上の二つの  $Ca^{2+}$  流入経路を神経細胞モデルを図1に示す。

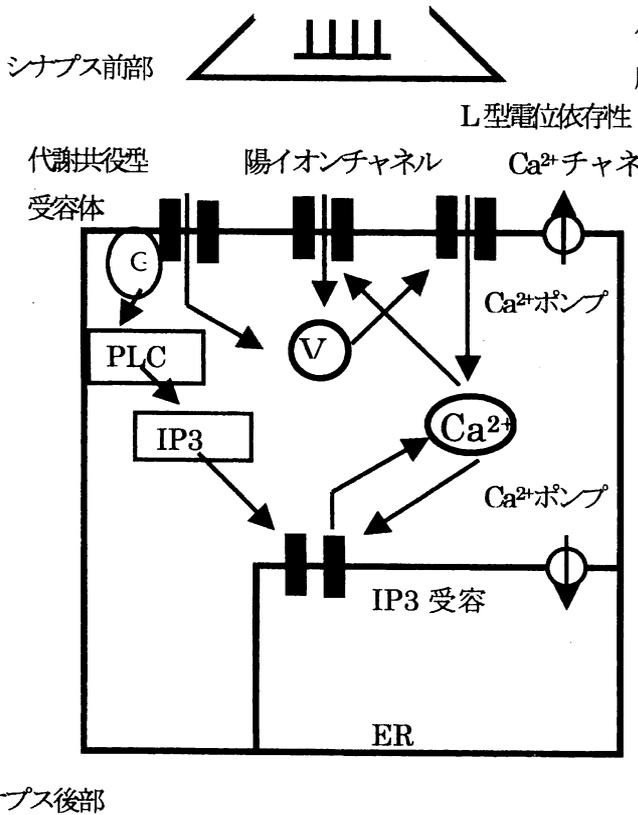


図1 モデル図

モデル細胞内には小胞体 (ER) が存在するものとし、細胞膜上には代謝調節型受容体チャンネル、膜電位依存性  $Ca^{2+}$  チャンネル、 $Ca^{2+}$  依存性陽イオンチャンネルが存在する。また、小

胞体膜上には、 $IP_3$  受容体チャンネルが存在する。さらに、細胞膜上および小胞体膜上には細胞質内  $Ca^{2+}$  を細胞外へ排出および小胞体内への取り込みを行なう  $Ca^{2+}$  ポンプが存在する。

シナプス前部パルスが到達し、伝達物質が放出され、シナプス後膜受容体チャンネルと結合してG蛋白質が活性化されると、細胞質内に存在するフォスホリパーゼC (PLC) の活性化により  $IP_3$  産生が促進される。小胞体膜上の  $IP_3$  受容体の活性化すると小胞体から細胞質内への  $Ca^{2+}$  が流出する。 $Ca^{2+}$  濃度上昇に伴う  $Ca^{2+}$  依存性陽イオンチャンネルの活性化により細胞質内の膜電位が上昇する。一方、代謝調節型受容体チャンネルの活性化によっても膜電位が上昇する。これらの膜電位上昇により膜電位依存性  $Ca^{2+}$  チャンネルを通して細胞外から  $Ca^{2+}$  が細胞質内に流入する。以上の  $Ca^{2+}$  濃度変化に伴う

膜電位変化への反応機序を図2に示す。

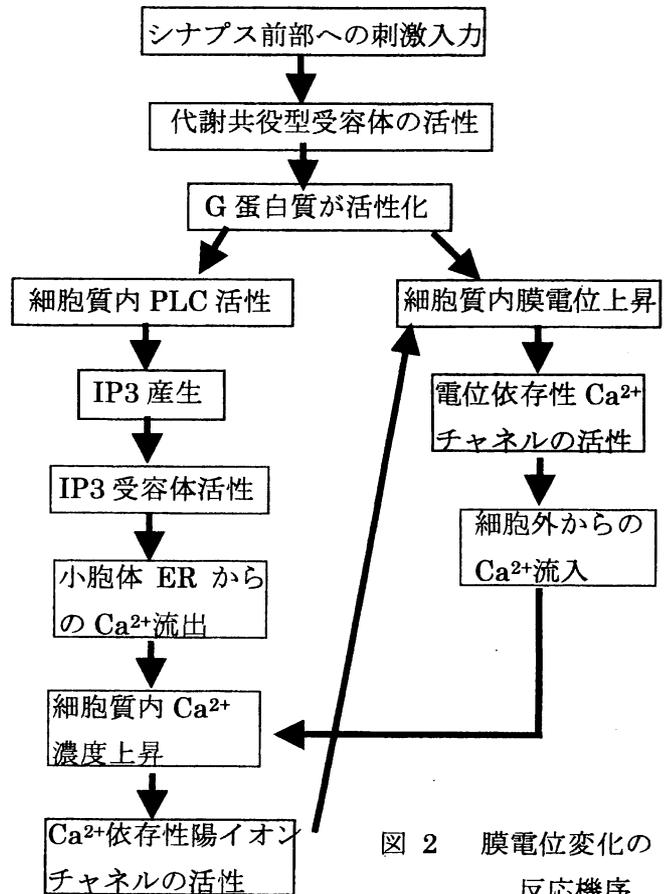


図2 膜電位変化の反応機序

細胞質内膜電位ダイナミクス、 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度ダイナミクス、および各チャンネル反応ダイナミクスは Appendix1 に示す。

### 3. シミュレーション

3分毎に刺激入力を入れるものとして、以下の条件のもとでシミュレーションを行う。シミュレーションに用いたパラメータを Appendix2 に示す。

- 1、刺激入力として、20Hz,15発の入力を与えた場合 (振幅固定)
- 2、3回刺激入力を与えた後、入力を遮断する場合
- 3、刺激入力の発数を5, 10, 15, 20発と変化させる場合
- 4、刺激入力を与えるたびに入力の大きさを増加させる場合

#### 3. 1シミュレーション結果1

刺激入力として 20Hz、15 発の入力を与えた場合の膜電位の変化、膜電位周波数変化、 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度、 $\text{Ca}^{2+}$ 依存性陽イオン電流をそれぞれ図 3、図 4、図 5、図 6 に示す。

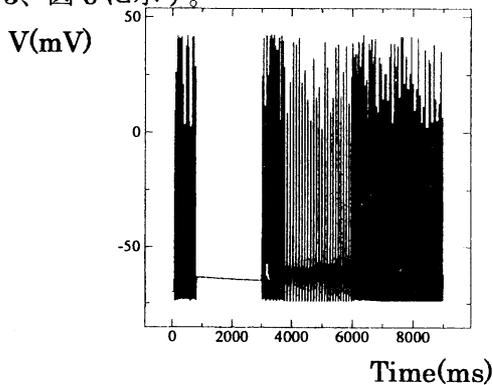


図 3 膜電位変化

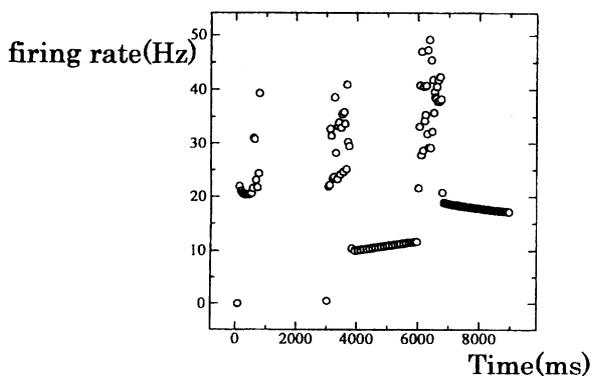


図 4 膜電位周波数変化

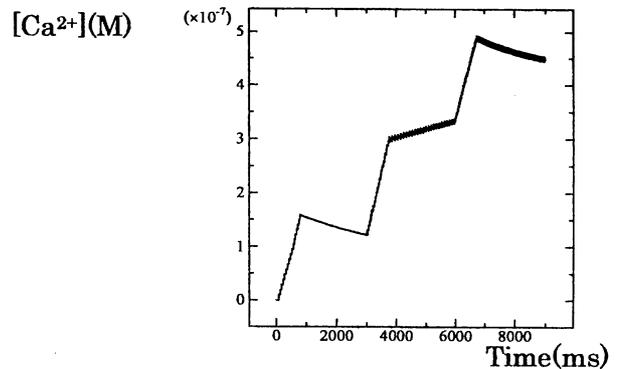


図 5  $\text{Ca}^{2+}$ 濃度変化

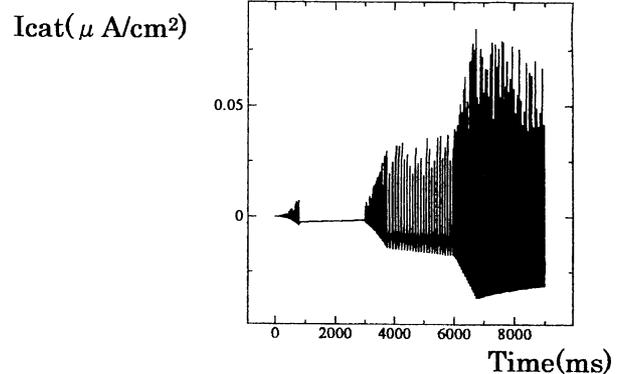


図 6  $\text{Ca}^{2+}$ 依存性陽イオン電流変化  
膜電位は、2回目の入力から持続発火が起き、3回目の入力後のほうが、持続発火の周波数が増加している。そのとき、 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度も段階的に上昇し、それに伴  $\text{Ca}^{2+}$ 依存性陽イオン電流も段階的に増加していることがわかる。

#### 3. 2シミュレーション結果2

刺激入力として 20Hz、15 発を3回入力して、その後入力を遮断した場合の膜電位変化、膜電位周波数変化、 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度、 $\text{Ca}^{2+}$ 依存性陽イオン電流をそれぞれ図 7、図 8、図 9、図 10 に示す。

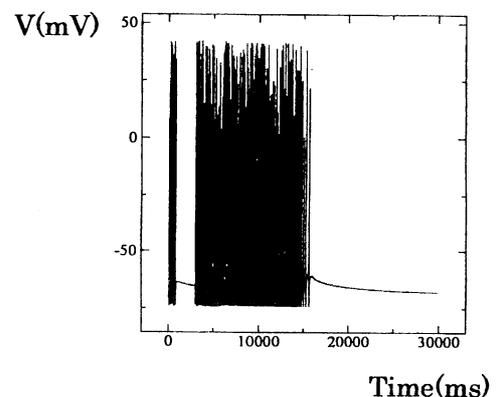


図 7 膜電位変化

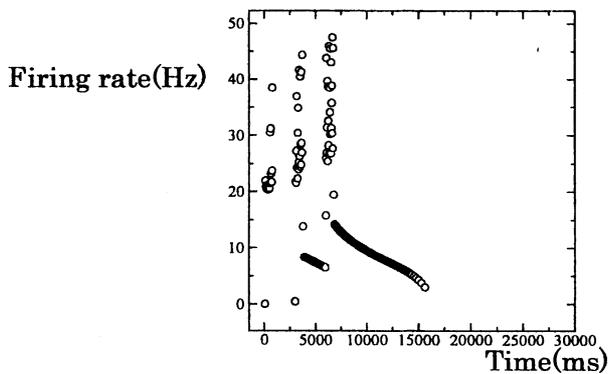


図 8 膜電位周波数変化

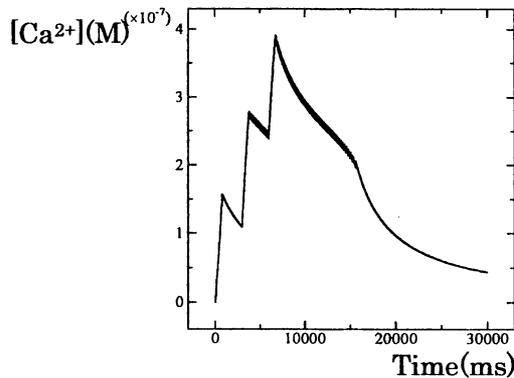


図 9 Ca<sup>2+</sup>濃度変化

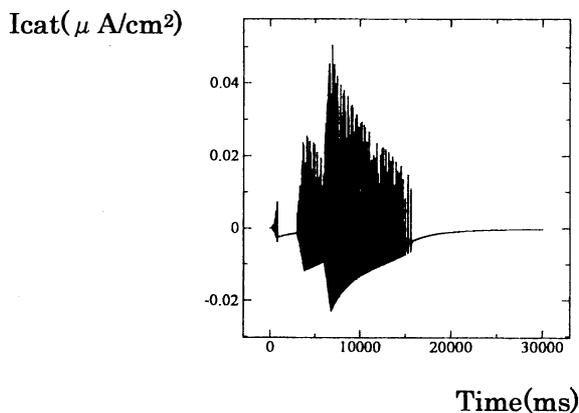


図 10 Ca<sup>2+</sup>依存性陽イオン電流変化

入力の後時間をおくと、持続振動の周波数は減少し、その持続振動は後止まる。そのときのCa<sup>2+</sup>濃度は、入力の後から減少し、それに伴いCa<sup>2+</sup>依存性陽イオン電流も減少し、いづれ止まった

### シミュレーション結果 3

刺激入力の発数を 5, 10, 15, 20 発と変化した場合の持続振動周波数の変化を図 11 にしめす。

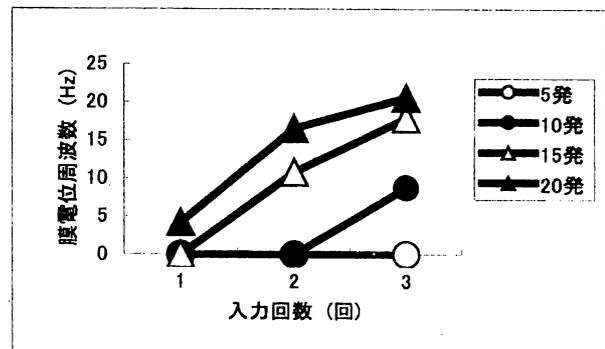


図 1 1 入力発数変化に伴う周波数変化

5 発のときは全く持続発火せず、10 発、15 発、20 発と発数を変化させるに従い、振動開始の時点が早くなり、持続発火も周波数も増加している。

### 3. 4 シミュレーション結果 4

刺激入力として 20Hz、10 発を与えた場合、入力を与えるたびに振幅を変化させない場合と増加させる場合を比較した。

(1) 毎回与える入力振幅を変化させない場合(コントロール)の膜電位変化と膜電位周波数変化を図 12、図 13 に示す。

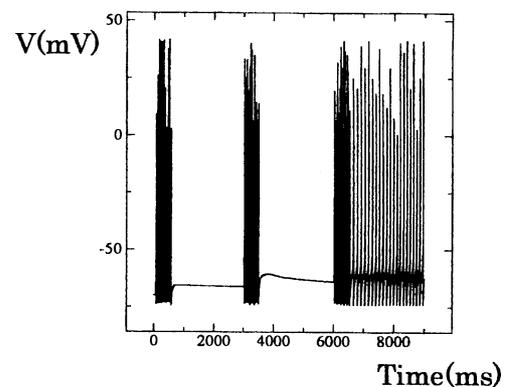


図 12 膜電位変化

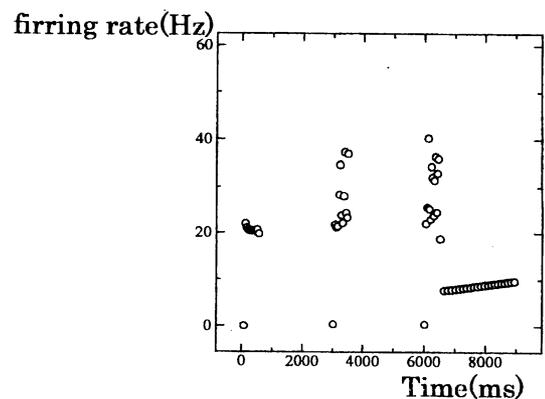


図 13 膜電位周波数変化

(2) 入力振幅を2回目コントロールの20%増、3回目40%増にした場合の膜電位変化、周波数変化を図14、図15に示す。

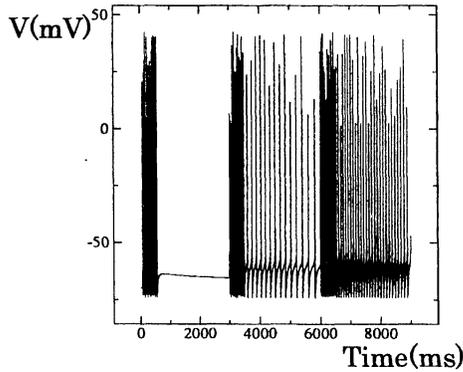


図14 膜電位変化

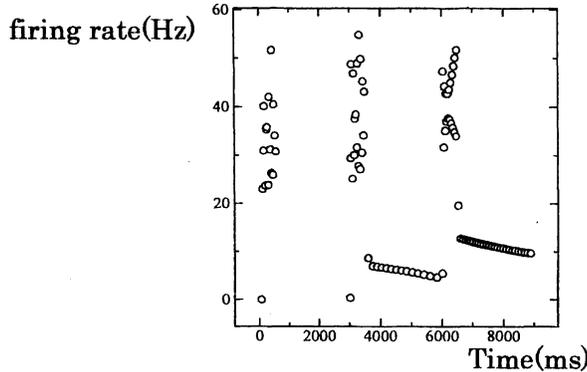


図15 膜電位周波数変化

入力の振幅を変化させないときは、1回、2回目の入力後定常状態の押し上げはみられたが、持続発火は起きなかった。入力の振幅を1倍、1.2倍、1.4倍と変化させると、2回目の入力後から持続発火が見られ、3回目の入力後ではより周波数の高い持続発火がみられた。

#### 4. あとがき

シミュレーションにより、以下のことを明らかにした。

- (1) 入力による  $Ca^{2+}$  濃度の上昇に伴い  $Ca^{2+}$  依存性陽イオンの流入も増加し膜電位の段階的持続振動が生じる。
- (2) 入力を遮断した後  $Ca^{2+}$  濃度減少に伴い  $Ca^{2+}$  依存性陽イオンの流入が減少し持続振動が停止する。
- (3) 変化させると、それに伴い持続発火の

(4) 周波数が変化する。

以上のことから、 $Ca^{2+}$  依存性陽イオンが細胞膜の段階的持続振動に必要である。また膜電位の持続的活動は入力の振幅、入力の発数に大きく依存することがわかり、Egorov らの実験結果をシミュレーションにより立証した。

今後このような細胞からなる神経ネットワークがワーキングメモリを含めた学習・記憶にどのように働くかを検討する。

#### 5. 参考文献

- [1] Egorov, A.V., Hamam, B.N., Franssen, E., Hasselmo, M.E., & Angel, A. Graded persistent activity in entorhinal cortex neurons. 420, Nature, 173-178, 2002
- [2] Jun-Nosuke, T. & Tomoki, F. A cellular Mechanism for Graded Persistent Activity in a Model Neuron and Its Implications in Working Memory... Journal of Computational Neuroscience 18, 105-121, 2005
- [3] W. Connors Single-neuron mnemonics, Barry, Nature Publishing Group 133-134, 2002

#### [Appendix 1]

膜電位は Hodgkin-Huxley の方程式に従う。

$$C_m \frac{dV}{dt} = -I_{leak} - I_{Na} - I_K - I_A - I_{cat} - I_{met} \quad (1)$$

各チャンネルの開口率は以下の式に従う。

$$\frac{dx}{dt} = \alpha_x(1-x) - \beta_x x \quad (2)$$

$$(x = m, h, n, a, b)$$

$$\text{leak 電流} \quad I_{leak} = g_{leak} \cdot (V - E_{leak}) \quad (3)$$

$$\text{Na 電流} \quad I_{Na} = g_{Na} \cdot m^3 \cdot h \cdot (V - E_{Na}) \quad (4)$$

$$\text{KDR 電流} \quad I_K = g_K \cdot n^4 \cdot (V - E_K) \quad (5)$$

$$\text{KA 電流} \quad I_A = g_A \cdot a^3 \cdot b \cdot (V - E_K) \quad (6)$$

$$\alpha_m = \frac{-0.1 \cdot (V + 32)}{-1 + \exp(-0.1 \cdot (V + 32))} \quad \beta_m = 4 \cdot \exp\left(-\frac{V + 57}{18}\right) \quad (7)$$

$$\alpha_h = 0.07 \cdot \exp\left(-\frac{V + 48}{20}\right) \quad \beta_h = \frac{1}{1 + \exp(-0.1 \cdot (V + 18))} \quad (8)$$

$$\alpha_n = \frac{-0.01 \cdot (V + 34)}{-1 + \exp(-0.1 \cdot (V + 34))} \quad \beta_n = 0.125 \cdot \exp\left(-\frac{V + 44}{80}\right) \quad (9)$$

$$\alpha_a = \frac{0.0224 \cdot (V + 30)}{-1 - \exp\left(-\frac{(V + 30)}{15}\right)} \quad \beta_a = \frac{0.056 \cdot (V + 9)}{-1 + \exp\left(\frac{(V + 9)}{8}\right)} \quad (10)$$

$$\alpha_b = \frac{0.0125}{\exp\left(\frac{(V + 8)}{14.5}\right)} \quad \beta_b = \frac{0.094}{1 + \exp\left(-\frac{(V + 63)}{16}\right)} \quad (11)$$

$$\text{陽イオン電流} \quad I_{cat} = g_{cat} \cdot \frac{[Ca^{2+}]}{[Ca^{2+}] + K_{cat}} \cdot (V - E_{cat}) \quad (12)$$

$$\text{代謝共役型受容体} \\ \text{を通る電流} \quad I_{met} = g_{met} \cdot \left( e^{\frac{-t-k\Delta}{\alpha m_1}} - e^{\frac{-t-k\Delta}{\alpha m_2}} \right) \cdot (V - E_{met}) \quad (13)$$

細胞質内  $Ca^{2+}$  濃度は以下の式に従う

$$\frac{d[Ca^{2+}]}{dt} = J_{LCC} + J_{IP3} - J_{pump,ER} - J_{pump,m} \quad (14)$$

$$\text{細胞外からの} \\ \text{Ca}^{2+} \text{流入} \quad J_{LCC} = g_{L} \cdot m_L^2 \cdot P \cdot V \cdot GHK \quad (15)$$

$$GHK = \frac{Z^2 \cdot F^2 [Ca^{2+}] - [Ca^{2+}]_{out} \cdot \exp\left(-\frac{2 \cdot V \cdot F}{R \cdot T}\right)}{R \cdot T \left( 1 - \exp\left(-\frac{2 \cdot V \cdot F}{R \cdot T}\right) \right)} \quad (16)$$

(Goldman-Hodgkin Katz 方程式)

$$\text{ER からの} \\ \text{Ca}^{2+} \text{流入} \quad J_{IP3} = R_{IP3} \cdot P_{open} \cdot ([Ca^{2+}]_{ER} - [Ca^{2+}]) \quad (17)$$

$$\text{ER への} \\ \text{Ca}^{2+} \text{流出} \quad J_{pump,ER} = R_{pump,ER} \cdot \frac{[Ca^{2+}]}{[Ca^{2+}] + K_{pump,ER}} \quad (18)$$

$$\text{細胞外への} \\ \text{Ca}^{2+} \text{流出} \quad J_{pump,m} = R_{pump,m} \cdot \frac{[Ca^{2+}]}{[Ca^{2+}] + K_{pump,m}} \quad (19)$$

細胞質内 IP3 濃度は以下の式に従う

$$\frac{d[IP3]}{dt} = \alpha \cdot PLC \cdot ([IP3]_{max} - [IP3]) - \beta \cdot [IP3] \quad (20)$$

$$PLC = \alpha m \cdot I_{met} + \frac{[Ca^{2+}]^4}{[Ca^{2+}]^4 + K_{PLC}^4} \quad (21)$$

## [Appendix2]

$C_m = \mu \text{ F/cm}^2$	$g_L = 0.04 \text{ nM/A}$
$g_{leak} = 0.03 \text{ mS/cm}^2$	$[Ca^{2+}]_{out} = 2600 \mu \text{ M}$
$g_{Na} = 45 \text{ mS/cm}^2$	$Z = 2.0$
$g_K = 18 \text{ mS/cm}^2$	$F = 9.6485 \text{ C/mol}$
$g_A = 30 \text{ mS/cm}^2$	$R = 8.3145 \text{ J/Kmol}$
$E_{leak} = -70 \text{ mV}$	$T = 303 \text{ K}$
$E_{Na} = 55 \text{ mV}$	$K_{pump,ER} = 20 \mu \text{ M}$
$E_K = -80 \text{ mV}$	$K_{pump,m} = 20 \mu \text{ M}$
$E_A = -80 \text{ mV}$	$[IP3]_{max} = 5 \mu \text{ M}$
$g_{cat} = 0.45 \text{ mS/cm}^2$	$\alpha = 10 \text{ s}^{-1}$
$K_{cat} = 10 \mu \text{ M}$	$\beta = 0.05 \text{ s}^{-1}$
$E_{cat} = -40 \text{ mV}$	$\alpha m = 0.01 \mu$
$g_{met} = 0.015 \text{ mS/cm}^2$	$K_{PLC} = 5.7 \mu \text{ M}$
$E_{met} = 0 \text{ mV}$	

表 1 シミュレーションで用いたパラメータ  
定数値