

神経可塑性と脳のお律性・自律性

— ラット前頭葉皮質機能の神経化学的考察 —

滝田 正寿, 横井 浩史, 水野 敬文

新規に開発した連続脳内微少透析法を用い、ストレス性刺激に応答するラット前頭葉皮質の細胞外の乳酸とグルタミン酸の濃度変動を経時的に観察した。共に、刺激提示により一過性の増加反応を示し、1時間後の同一刺激再提示により反応性の減弱＝慣れを示した。しかし、モノアミン涸渴薬のレセルピンの作用も、強度と慣れの関係も異なっていた。これら脳内物質の可塑的挙動を神経化学的に解析し、脳のお律性と自律性について考察を行った。

略語

内側前頭葉皮質：mpFC, 乳酸放出：LR, グルタミン酸放出：GR, テイルピンチ：TP, 100 dB のホワイトノイズ：100 dB, 拘束：IMB, レセルピン：RES, ドーパミン：DA, ノルアドレナリン：NA, カテコールアミン：CA.

I. はじめに

脳は、感覚器を介して外的環境の情報を得る。そして内的環境を参照する過程を経て、行動発現系への調節を行う。この情報伝達過程の主役は神経であり、その軸索上を流れる電気情報と神経間を繋ぐシナプスの化学的な物質情報である。

近年の脳研究は、神経細胞の個別機能の解明を主目的として分析的に行われている。しかし、脳本来の特徴は、「混沌状態にある個別機能の自律的調和状態」に発揮される。言い換えるならば、電気的な情報として表現される個々の神経機能は、シナプス間に存在する化学的な法則に基づいて、他の脳部位と調和する機能的複合体を自律的に構成することである。因みに、個々の神経が有する電気的情報も複数の細胞内情報伝達系から調和的に構

成されている。

成人の前頭葉皮質機能は、個体差が大きく、感情や情動の制御、計算や計画、注意や選択、認識等の高次な精神活動と密接に関与することが臨床的に示唆されている。これは、前頭葉皮質機能にヒトの意思や行動等の基盤となる「自律性」が含まれることを推察させる。一方、哺乳類間でヒトの脳に見いだせる比較生物学的＝進化レベルの特徴に、前頭葉皮質の占有率が大きいことがある。また、発達レベルでは、構造的完成が最も遅いのは前頭葉皮質である（ヒトで10歳位）。即ち、前頭葉機能は、時間をかけて環境要因から他律的に構成されたと考えられる。このお律性は、内外の環境差により発生すると考えられるため、広義では環境適応性のようなものであろう。

個体の環境適応とは、環境との調和状態（H1）から環境変化（s1）の検知を経て混沌

状態 (C (s1)) へと遷移し、再び調和状態状態 (H2) がとられる過程を指す。この時、 $H1 \approx H2$ である。再度、同一の環境変化 (s2) がある時、一般的には、 $C (s1) > C (s2)$ ということが自然界では観察される。この環境依存的な応答 $C (s1)$ と $C (s2)$ はそれぞれ $H1$ と $H2$ から他律的に導かれると考えられるが、「 $C (s1) > C (s2)$ 」は、個体が選択した方法であるから自律的である。

刺激応答性の減弱は、個体レベルでも神経レベルでも観察される「慣れ」と呼ばれる現象であり、非連合性の学習とされる。それは、神経の可塑的な機能により成立する。哺乳類の祖先でもあるラットについて、前頭葉皮質の神経群における可塑的環境応答性を検索し、脳が他律的に自律性を構成する過程を観察することを計画した。環境刺激としては前頭葉皮質で応答が観察されるストレス性の刺激⁽¹⁾、自由行動下での細胞群のマクロな活動観察には脳内微小透析法を、活動指標としてはエネルギー代謝系の最終産物の一つである乳酸と神経伝達物質でもあるグルタミン酸を従来よりも高時間分解能で計測し、以下の実験を行った。

II. 実験方法

手術は既報に準じ以下のように行った⁽²⁾⁻⁽⁴⁾。ネンブター麻酔下の雄性ラット (ウイスター系、7-10 週令) の頭皮を切開し、頭蓋に穴を空け、硬膜のみを 1 mm 程切開し、脳地図を参照し自作の I 字型脳微小透析膜プローブ (ϕ 0.2 mm) を内側前頭葉皮質 (B: -3 mm, L: 1 mm, D: 3 mm under dura) と中隔野 (B: 0 mm, L: 1 mm, V: 6 mm under dura) へ刺入し、頭蓋へ固定した⁽⁵⁾。手術回復 1 日後より、自由行動下でプローブヘリンガー液を 2.5 μ l/分 で灌流した。

乳酸とグルタミン酸の測定は、乳酸脱水素酵素とグルタミン酸脱水素酵素が NAD^+ (非蛍光物質) から $NADH$ (蛍光物質) を生成す

る反応を応用した。プローブから回収されるサンプルと蛍光酵素測定用溶液を T 字管で直接反応させフローセル付き蛍光分光光度計を用い連続的に計測した (ex: 340 nm, em: 460 nm)。グルタミン酸についても同様に行った。

テイルピンチ刺激はゴム管を介し、クリップ (市売のダブルクリップ) で尾を一分間挟み提示した。

統計は、Student の両側 t 検定を用いた。

III. 結果

基礎放出が安定した後、1 分間のテイルピンチ (TP) を提示した。内側前頭葉皮質 (mpFC) の細胞外乳酸放出 (LR) と細胞外グルタミン酸放出 (GR) はそれぞれ一過性の増加反応を示し、1 時間後の同一刺激提示時には反応の減弱を示した (図 1)。5 分間の 100 dB ホワイトノイズ (100 dB) と 5 分間の拘束 (IMB) を提示したときの mpFC の LR と併せて比較したところ、それぞれ同様な反応減弱性が有意に観察された (表 1)。

モノアミン枯渇薬のレセルピン (RES: 0.5 mg/kg) を皮下投与した 15 時間後、LR の基礎放出は観察されなくなり刺激応答性も消失したが、GR の基礎放出は変化なく刺激

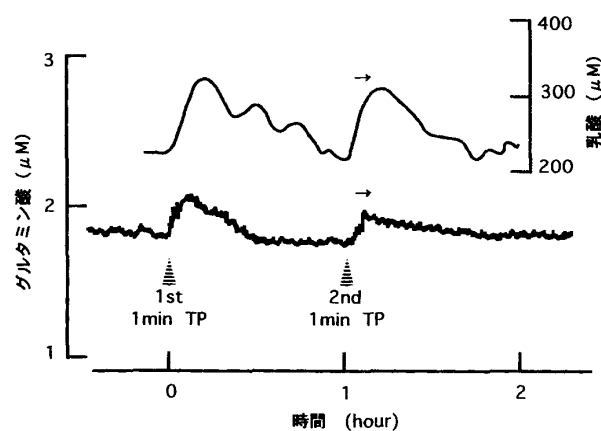


図 1 ラット内側前頭葉皮質の細胞外乳酸 (上) とグルタミン酸 (下) への 2 度のテイルピンチ (TP) の効果。それぞれの矢印は初めのピークの高さを示している。

表 反復刺激提示によるLRとGRの反応減弱効果
ピーク値と基礎値の差を反応とした。
*, p<0.05 (n=4-5)

| | | 基礎値 (μM) | 最初のピーク (% of 基礎値) | 反復時の反応性 (% of 最初の反応) |
|--------|-------|--------------------------|----------------------|-------------------------|
| 乳酸 | TP | 208 \pm 19 | 123.0 \pm 5.8 | 65.5 \pm 7.1* |
| | 100dB | 221 \pm 24 | 123.0 \pm 4.2 | 64.6 \pm 9.3* |
| | IMB | 220 \pm 34 | 157.1 \pm 7.4 | 54.4 \pm 6.4* |
| グルタミン酸 | TP | 2.37 \pm 0.44 | 111.1 \pm 2.4 | 68.4 \pm 7.2* |

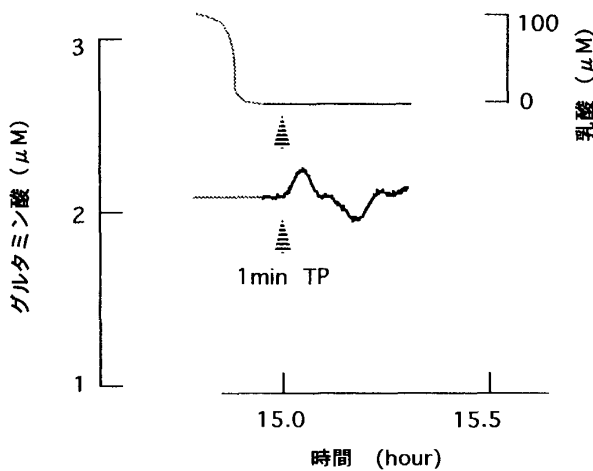


図2 レセルピン投与後15時間後のmpFCのLRとGRの応答性

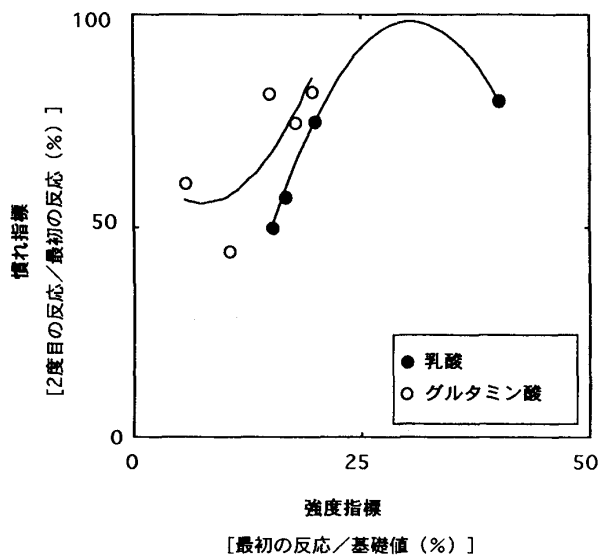


図3 mpFCのLRとGRの強度一慣れ曲線
LR: $y = -95.6 + 12.7x - 0.206x^2$
 $r = 0.99$
GR: $y = 67.6 - 3.16x + 0.206x^2$
 $r = 0.77$

応答性は観察された(図2)。

TPによるLRとGRに関して刺激の内的強度と慣れの相関を調べたところ、それぞれは強い相関を示し、互いは異なった応答曲線を示した(図3)。

IV. 考察

前頭葉皮質の反応について

数種のスレスがラット海馬と線条体の乳酸放出(LR)を、前頭葉皮質のグルタミン酸放出(GR)を増加させることが報告されている⁽⁶⁾⁻⁽⁹⁾。本研究は、実験動物が未経験であろう感覚刺激提示が、mpFCのLRを昂進させることを初めて見いだした。また、mpFCのLRとGRの反応性の減弱という現象も見出したが、これは、(1)感覚の種類が異なる刺激でも応答した、(2)反復提示の間隔を1時間おいても反応性は低下した、(3)新規刺激は反応性を回復させた、(4)神経伝達物質の受容体作用薬は反応性を回復させた、(LRに関しては同一刺激の反復提示は反応方向を逆転させた)という性質を有していた⁽⁴⁾。即ち、この現象は単純な“疲労”として捉えられないことが解った。ThompsonとSpencer(1966)の“慣れ(habituation)”の定義に則り、本研究で観察した現象は、慣れであると結論した。

mpFCのLR反応は、RES感受性であり、RES処置後にドーパミン(DA)作用薬とアドレナリン β 作動薬がLRを再現したことから、刺激に対するmpFCのLR反応は、カテコールアミン(CA、即ちDAとノルアドレナリン(NA))性神経活動に依存し、phasicに調節されるCA性受容体のシナプス後機能を反映することは既に報告した⁽⁴⁾。モノアミン性神経とスレスの関連は、多く研究がなされてきた。また一方で、1930年代にSelyeが提唱して以来、生体は反復もしくは長期継続されたスレスに対し適応することも言われてきた。基礎研究レベルでも、脳内のNAとDAが、スレス反応・適応と関与することが

多く示唆されてきた⁽¹⁾。また、このことは近年の臨床知見とも一致する。慣れを起こす刺激は弱いということから、用いた刺激はストレスとして充分微弱であったと考えられた⁽¹⁰⁾。

慣れは、軟体動物にも観察できる非連合性学習（単純な学習）とされ、教科書レベルでもシナプス前部へのカルシウム流入の減少が原因であると記載されている。つまり、神経を反復興奮させると、神経伝達物質遊離に必須であるシナプス前部へのカルシウム流入量が細胞内情報伝達系の調節により減少し、シナプス後受容体への伝達量が減少するということである。ラットについても CA のシナプス前部でストレス性刺激への応答に慣れが起きることが報告されている。しかし、神経伝達物質自身を反復灌流しても反応性の減弱が起きることを認めており、過剰伝達による受容体の感受性低下が前頭葉皮質の慣れ導き保持する機構も存在すると考えられる⁽⁴⁾。今後、シナプス前後の関係を同時に解析することが必要であろう。

前頭葉皮質の情報処理過程について

パプロフの古典的条件付けを連合学習と呼ぶのに対し、慣れは非連合学習と言われ区別されている。脳は分散並列情報処理過程で、この非連合学習と連合学習の様な可塑的機能を適宜適所で用いていると推察できる。しかし、その分散制御法則の研究は等閑にされたままである様にみえる。前頭葉皮質で観察した刺激反応は、古典的条件付けもできる事が試験研究段階で解っている（未発表データ）。脳がどのように情報処理様式を選択を行っているかを研究するのにも、前頭葉皮質は有用な研究対象であると考えている。異なったモダリティを有効利用できること、感覚系と運動系の一時的影響が少ないことも実験上都合がよいと考えられた。

mpFC の GR も慣れを示したが、LR と異なりレセルピン感受性はない上、LR と異な

る刺激—慣れ曲線を示し、その起源が異なることが示唆された。また、それらは受容体を介した情報処理であるため、特定の受容体の感受性を薬物を用いて低下させる試みも行ったが慣れの促進は誘導されず脱慣れを示した（未発表データ）。即ち、mpFC は、2 種類以上の並列情報を統合していることが示された。また、mpFC の活動性を脱分極刺激により非特異的に昂進させた実験結果から、LR も GR も複数細胞の活動を反映すると考えられた。即ち、得られた実験結果における情報の授受関係を従来のような単シナプスモデルで説明できないことが解った。言い換えるならば、慣れという単純とされる学習も解析を試みると単純ではなかった。複数の情報が複数の細胞へ情報を送り、情報を受けた一つ一つの細胞が群の情報処理過程で脳機能を演出することは、脳の機能局在論からも推察できる。脳機能、前頭葉皮質機能、個体の自律性を知るためには、群内／群間の情報処理機構を知ることが重要であろう。

群と言えは身近な生物群の特徴的な行動様式に、混沌と調和の 2 系列がある。例えば、餌を探す命題と対面しているアリは一匹一匹が自由（混沌状態）に振る舞うが、餌との遭遇時に数匹が協力（調和状態）して餌を運ぶこと収束する。神経系での実例として、生後ラットの海馬スライス培養の CA1 神経細胞群について細胞内カルシウムイオン挙動を観察し、入力を失っている状態では内在性に間遠な自発同期発火パターン（混沌状態）を有し、外部からの電気刺激によりシャープな同期パターン（調和状態）を有することを認めている⁽¹¹⁾。まとめると「混沌と調和状態は系全体の自由度の大きさが異なり、遷移的な混沌状態は自由度を失うことで調和状態に収束する」といえる。ストレス応答する mpFC はその逆の過程を通ると考えられる。つまり、外的環境により他律的に導かれていた既存の細胞群の調和状態は、未知情報の検出と共に

個々に自由度を得た混沌状態となり、既知情報の再検出は自由度獲得度の減少（慣れ／適応）導くことである。この自由度の制限が保持される機構は群自身が有した自律的能力であったと考えられたが、その機構解明のためには従来の枠に留まらない多角的な研究が必要であろうと思う。

脳研究をボトムアップし「心」を工学的に創造し応用することが産業面からも生活面からも期待されている。その下地として、異研究分野間に十分な自由度が育まれてきたが、人工生命研究の流れに協調的な新しい展開を期待したい。

この研究の一部は、科学技術振興調整費による COE 育成制度「分子情報に基づく生体情報の受容・伝達・制御・統合の研究」により助成を受けた。

参考文献

- (1) Thierry, A.M., J.P. Tassin, G. Blanc and J. Glowinski: Selective activation of the mesocortical DA system by stress, *Nature*, 263, pp.242-244 (1976).
- (2) Takita, M., T. Tsuruta Y., Oh-hashii and T. Kato. In vivo release of cholecystokinin-like immunoreactivity in rat frontal cortex under freely moving conditions. *Neurosci Lett*. 100, 249-253, 1989.
- (3) Takita, M., M. Mikuni and K. Takahashi: Pharmacological profile of brain glucose utilization obtained by monitoring of lactate release in vivo under the free moving condition. In *Basic Aspects of Alzheimer's and Parkinson's Diseases*, edited by T. Nagatsu, A. Fisher and M. Yoshida, New York, Plenum, pp.469-472 (1990).
- (4) Takita, M., M. Mikuni and K. Takahashi: Habituation of lactate release responding to stressful stimuli in rat prefrontal cortex in vivo, *Am. J. Physiol.*, 263 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 32), R722-R727 (1992).
- (5) Paxinos, G. and C. Watson: *The rat brain in stereotaxic coordinates* (2nd ed.), Sydney, Australia Academic (1986).
- (6) Korf, J.G.K. Aghajanian and R.H. Roth: Increased turnover of norepinephrine in rat cerebral cortex during stress role of the locus coeruleus, *Neuropharmacol*, 12, pp.933-938 (1973).
- (7) Kuhr, W.G. and J. Korf: Extracellular lactic acid as an indicator of brain metabolism continuous on-line measurement in conscious freely moving rats with intrastriatal dialysis, *J. Cerebral Blood Flow Metabol*, 8, pp.130-137 (1988).
- (8) Kuhr, W.G., C.J. Van den Berg and J. Korf: In vivo identification and quantitative evaluation of the active transport of lactate at the cellular level in the striatum of conscious free-moving rats, *J Cerebral Blood Flow Metabol*, 8, pp.848-856 (1988).
- (9) Moghaddam B: Stress preferentially increases extraneuronal levels of excitatory amino acids in the prefrontal cortex, comparison to hippocampus and basal ganglia, *J. Neurochem*, 60(5), pp.1650-1657 (1993).
- (10) Thompson, R.F. and W.A. Spencer: Habituation, model phenomenon for the study of neuronal substrates of behavior, *Psychol. Rev*, 73, pp.16-43 (1966).
- (11) Y. Kudo, M. Takita, K. Nakamura, K. Sugaya and A. Ogura: Heterogeneous distribution of functional glutamate receptor subtypes in organotypic slice culture of rat hippocampus revealed by calcium fluorometry, *Bioimages*, 1(2), pp.159-166 (1993).