

新皮質及び海馬の時間空間ダイナミクス観測のための マルチ電極測定装置

中島 孔志, 荒木 敏雄, 石塚 智, 林 初男

1 背景

以前から記憶における脳の機能についての議論が行なわれている。特に、大脳辺縁系の旧皮質中の海馬は短期記憶に深く関わっている領域であり、最近では Buzsáki らにより海馬およびその周辺のネットワークでの情報の変換、および伝達について解剖学的見地から比較、検討がなされている。また、新皮質の体性感覚野においては内側係蹄 (ML) 刺激によるカオス応答が報告されている。そこで我々は、ラットの新皮質および海馬を対象とし、その時間空間的ダイナミクスを明らかにすることを目的とする。現在よく用いられているシングル電極はこの時間空間的ダイナミクスを観測するのに不適切であるが、独自のマルチ電極を用いた多チャンネル記録を行うことでそれを可能とする。この観測においては、我々のニューロン個々の活動よりも、同期したニューロン集団による活動が意味を持つという観点から、電極周辺の電場電位を記録する。本実験では、このマルチ電極による電場電位の観測をラット海馬のスライス (in vitro) および急性実験 (in vivo) によって行なう。

2 目的

実験は、スライス実験および急性実験を同時進行する。共に、マルチ電極を刺入し、その状態での刺激に対する応答を記録する。

スライス実験では、ラットの海馬を取り出した後、図 1 のように厚さ約 $400\mu\text{m}$ にスライスし、実験用チャンバーに移す。このチャンバーには、スライス試料の活性が保たれるように生理食塩水を灌流させる。灌流液の組成は、123mM の NaCl、3mM の KCl、1.25mM の $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、26mM の NaHCO_3 、1.3mM の $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、10mM の Glucose、2mM の $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ を主に用いる。

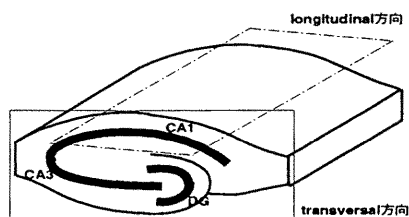


図 1: 海馬スライス

スライス実験では、急性実験と比べ、周辺の経路が切断されているので活性が低下するが、逆に灌流水の組成を変えることで色々な状態において実験することが可能となる。また、ネットワークの範囲が狭くなることで不必要な外乱の影響を除去でき、さらに切断面さえ変えれば3次元的な観測を行うことができる。スライス実験の目的は、以下のようにまとめられる。

- 以前から行われている Perforant Path 刺激等を行った場合の海馬活動をマルチ電極を用いて観測し、情報の広がり方、特に CA1 と CA3 との情報表現の違いを調べることで、情報処理の基礎を知る。
- transversal 方向へのスライスでは錐体細胞層が 1mm 位しかなく同期した活動しか得られないので、錐体細胞層が 2mm ほど広がりかつ抑制が強い longitudinal 方向へのスライスも用いることで 3 次元的な情報処理を調べる。
- LTP 前後での応答の時間空間的性質の違いを調べることで、LTP と海馬活動との関連性を見る。

急性実験はラットに比較的軽く麻酔し頭蓋を剥いで脳固定した状態で行なう。このラットの体性感覚野及び海馬に対し、内側係蹄刺激、鬚刺激を行ない、

- 応答を時間空間的にとらえることで同期した活動を示す領域が存在するか？
- シングル電極でカオス活動が観測されているがその意味は？
- いくつかのパターンの刺激を同時に行なうことによるニューロン集団の活動のリンクは生じるのか？

といった疑問を解決することを目的とする。さらに、Entorhinal Cortex と海馬内の経路について最近報告されているが、その確認実験、及び、各経路の担う意義について考える。これには図 2 に示すような経路での associative LTP の確認も含む。

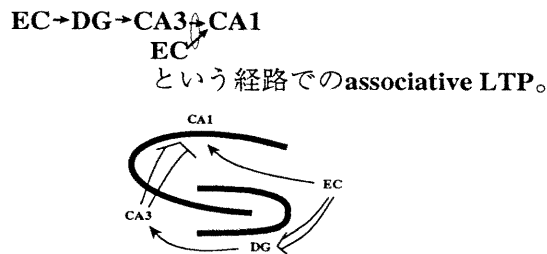


図 2: EC, 海馬間での associative LTP

3 実験装置

3.1 スライス実験

in vitro での実験。図 3 に示すように、海馬スライスを置いたチャンバーはダイオードを温度センサとし、それと連動したヒータを用いることで 34 度に温度制御する。チャンバー内は生理食塩水を灌流させ、チャンバーの温度と等しくする。さらにチャンバー内の水は温度が均一になるようにバブリングする。記録用のマルチ電極はスライス試料の下部から、刺激電極は上部から刺入する。ここでは、海馬の基本的な構造における情報処理の様子を調べる。

(実験装置)

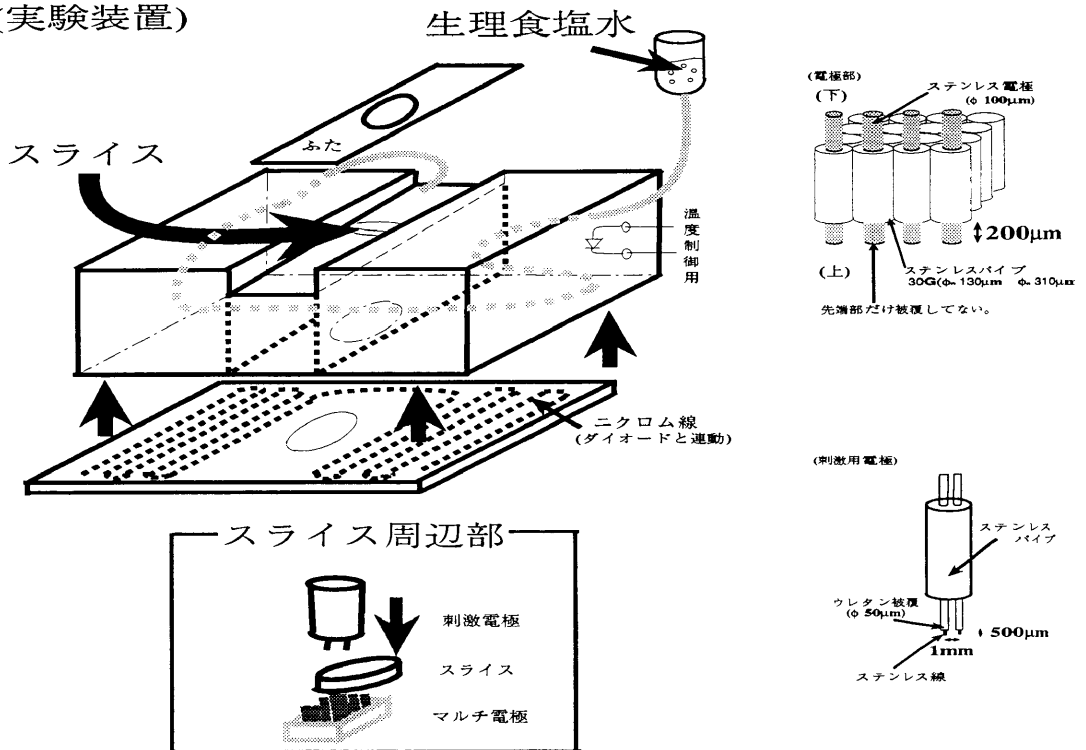


図 3: スライス実験装置

3.2 急性実験

in vivo での麻酔下の実験。ウレタンなどで麻酔し脳固定されたラットに対し、図 4 に示すような電極を用いて実験を行なう。内側係蹄、及び、鬚刺激に対する体性感覚野の応答に加え、各 fiber を刺激した場合の海馬の各領域の応答について調べる。将来的には、スライス実験ではできない深さ方向へのマルチ記録を行う予定である。

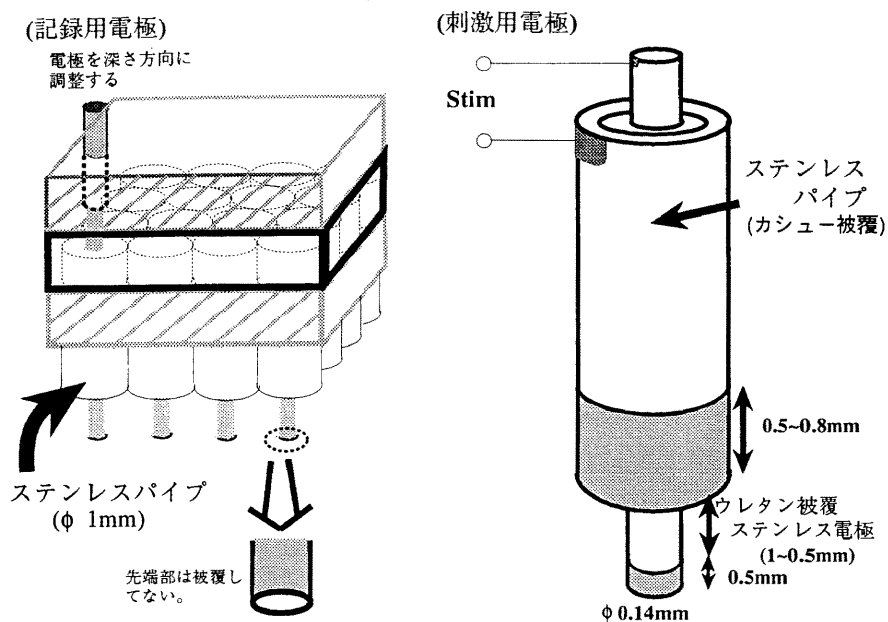


図 4: 急性実験用電極

3.3 共通部

スライス実験、急性実験の共通部分は、図 5 に示すように計測部とサンプリングおよび A/D 変換部である。計測部は記録用または刺激用の電極からの応答をシールドボックス内のプローブ部で 100 倍した後、メインアンプで 0.2~100 倍の増幅を行なう。そのデータをサンプリングする際、今年度中は 16ch 用のマルチプレクサを、来年度以降は 1ch 分を 4ch に割り当てることで 64ch に対応できる形式にする。A/D 変換器の変換速度は、1ch 当り $2\mu\text{s}$ である。

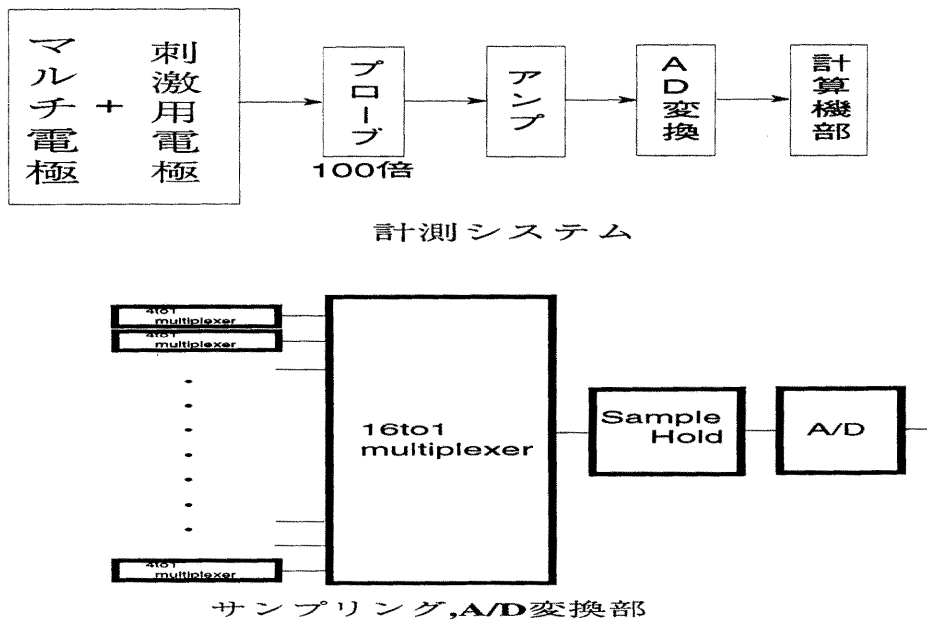


図 5: スライス実験、急性実験の共通部

4 まとめ

64ch での実験がデータサンプリング上難しく、平成 7 年度中は 16ch での記録を行う。また同時に、データ解析の方法についても考察中である。来年度以降は、64ch のデータが獲得できるシステムを確立していく予定である。