

主論文審査の要旨

本論文は、脊椎動物網膜における視覚情報処理のメカニズムを定量的に解析するうえで有効な新規実験試料を開発し、その試料の有用性を電気生理学および組織化学的手法により実証したものである。従来から剥離網膜や網膜スライスを試料とした実験解析によって、網膜が持つ視覚機能や、神経細胞間の結合様式に関する研究が成されてきた。しかしながら、神経回路が実行する情報処理は、形態学的な回路構造のみならず、細胞間の信号伝達や各細胞の信号処理の非線形なダイナミクスによって決定されるため、それらの特性を定量的に分離計測することが、神経情報処理の機序を定式化していくうえで必要不可欠となる。本論文では、網膜組織から神経細胞を単離する際に従来から常識的に用いられてきたタンパク質分解酵素を一切使用せず、網膜の出力段に位置する神経節細胞を機械的高速振動処理により選択的に急性単離することに成功しており、それらが、酵素処理による変性を免れた細胞試料として、電気生理学的特性の定量的な計測に有用であることが示されている。さらに単離された神経節細胞の細胞体上には、前段の抑制性細胞の神経終末部のみが機能的シナプス結合を保持して存在している場合があり、これを用いることによって、シナプス入力信号の基本単位となる微小シナプス後応答の分離計測とその特性解析が可能であることが実験的に示されている。

本論文の構成は次のとおりである。

第1章は序論であり、研究の背景と目的および論文の構成が述べられている。

第2章には、第3章以降の理解に必要な基本的な事項として、生体神経細胞の電気生理学の基礎、研究対象である脊椎動物網膜や網膜神経節細胞に関する過去の知見、および実験に用いられた電気生理学および組織化学的手法が概説されている。

第3章には、新規に開発した単離網膜神経細胞の試料成法およびその電気生理学の評価の結果が述べられている。生後26日以前のラットを実験動物とし、低 Ca^{2+} 濃度溶液中で短時間インキュベートした剥離網膜組織の神経節細胞層に、一定周波数で水平振動するガラス微細管先端部を僅かに接触させることで、その組織表層から細胞を単離している。単離した細胞が90%以上の確率で神経節細胞であることを、視神経切断面からの逆行性蛍光染色により示している。単離した細胞の非線形膜コンダクタンスおよび活動電位発火特性を穿孔パッチホールセルクランプ法により計測したうえで、それらがタンパク質分解酵素の細胞外投与により著しく変歪されることが示されている。これは、網膜神経節細胞の信号処理特性に関する過去の計測結果に、酵素処理のアーティファクトが含まれていた可能性を示唆するとともに、新規細胞試料作成法の優位性を示すものとなっている。

第4章では、新規方法により得られた単離神経細胞が、化学シナプスを介した信号伝達のダイナミクスを解析するうえでも有用な試料であることを示している。細胞膜脂質分子結合能を持つ蛍光色素 FM1-43 を用い、神経終末部内へ再取り込みされるシナプス小胞を染色することで、単離神経節細胞上に結合した神経終末部の存在を示している。またこれらの単離細胞に、膜電位/膜

電流の一過性変化が無刺激の状態で繰り返し発生することを穿孔パッチホールセルクランプ法により捉えている。膜電位/膜電流固定実験と、各種イオンチャネルや神経伝達物質受容体の拮抗的阻害薬の細胞外投与により、その一過性膜電位/膜電流変化が、細胞膜上の GABA_B 受容体の活性化を介した内向き整流性の K⁺チャネル電流により惹起されるシナプス後応答であることを見出している。これは網膜神経節細胞に関して、過去に報告の無い新しい抑制性信号入力経路を同定するものであり、さらに、その動特性ならびに電位依存的動作レンジを定量的に計測したものとなっている。

第5章では、本論文の結果を総括するとともに、過去の知見を踏まえての検討と考察、今後の展望が述べられている。

以上、本論文は、シナプスおよび単一細胞のレベルにおける信号処理特性を分離計測するうえでの新しい実験解析手法を提案するものであり、今後これを応用していくことによって、網膜における情報処理のメカニズムに関して、より定量的な解析が可能になることを示唆している。これらの研究成果は、査読付き国際学術誌に1編と査読付き国内学術誌に1編掲載され、また国際学術会議で3件、国内学術会議で3件発表されている。以上のことから、本論文の研究成果は、学術的に高く評価され、博士（工学）の学位を授与するに十分値すると認められる。

最終試験の結果の要旨

審査委員会は学位論文提出者に対して当該論文の内容および関連の専門分野について試問を行った。その結果、該当する研究分野において十分な知識と理解力および研究遂行能力を有していると判断した。また外国語に関しても、本研究内容について2編の国際学術誌論文執筆（筆頭）と2件の国際学術会議研究発表（筆頭）を行っており、研究者として十分なレベルの能力を備えていると認めた。

以上の結果に基づき、論文提出者は博士（工学）としての能力を十分備えていると判定した。

審査委員	情報電気電子工学専攻人間環境情報講座准教授	林田 祐樹
審査委員	情報電気電子工学専攻人間環境情報講座教授	村山 伸樹
審査委員	情報電気電子工学専攻人間環境情報講座教授	井上 高宏
審査委員	複合新領域科学専攻衝撃エネルギー科学講座教授	秋山 秀典