

審査の結果の要旨

歯状回苔状細胞における海馬情報の符号化

氏名 大内 彩子

海馬体は、主に CA1 野、CA3 野などの海馬、および歯状回などから構成される脳部位である。海馬 CA3 野において、複数の錐体細胞が同時に活動することによって生じる鋭波リップルという脳波は、記憶形成の様々な過程や将来の意思決定など高次機能に重要であることが示唆されている。鋭波リップルの情報伝達経路には、大脳皮質への順行性伝播と歯状回への逆行性伝播の2つの神経路が存在する。鋭波リップルの順行性伝播については記憶情報の獲得に寄与することが報告されているが、海馬から歯状回への逆行性伝播については機能的意義がほとんど明らかになっていない。そればかりでなく、個々のシナプスレベルでどのような情報伝達が行なわれ、さらには神経回路レベルでどのような情報演算が可能になるのかという点も明らかではない。そこで大内は、そもそもどのように鋭波リップルの逆行性伝播が起こるのかを調べることを目的として本研究を行った。

海馬 CA3 野から歯状回への直接的な興奮性投射はなく、逆行性伝播は間接的なシナプス連絡によって担われる。本研究では、CA3 野と歯状回の中に存在する苔状細胞に着目した。苔状細胞は局所神経回路の興奮性を正常に保つ役割があり、CA3 野の錐体細胞や歯状回の顆粒細胞と相互にシナプスを形成することから、海馬と歯状回をつなぐ重要な中継点となっている。

本研究では、鋭波リップルの情報が苔状細胞に集団単位で符号化されるという仮説を立てた。鋭波リップル発生前後における複数の苔状細胞の閾値下の膜電位変化を同時に観察することで、海馬と歯状回の局所神経回路における情報動態の詳細なメカニズムに迫った。

大内は、海馬急性スライス標本を作製し、単一の苔状細胞から *in vitro* パッチクランプ記録および CA3 野から鋭波リップルの発生を捉える局所場電位記録を同時に行った。鋭波リップルの発生直後に苔状細胞は有意に膜電位応答を示し、膜電位の大きさが鋭波リップルの振幅と相関することを発見した。すなわち、苔状細胞の神経活動は鋭波リップルの活動を反映したものであることを示した。

次に大内は、最大5つの苔状細胞から同時にパッチクランプ記録法を行い、局所場電位記録と閾値下膜電位を一斉に観察することで、局所神経回路における情報動態の観測を試みた。そして、鋭波リップルの活動および鋭波リップルに伴う複数の苔状細胞の膜電位変化に対してそれぞれ Affinity Propagation に基づいたクラスタリングを行った。鋭波リップルの活動と鋭波リップルに伴う複数の膜電位変化の対応関係を調べるため、得られた鋭波リップルのクラスター群と膜電位変化のクラスター群に対して、情報理論解析を適用し、これまで記録を行った各ペアから相互情報量を算出した。相互情報量は2つのクラスターが共有する情報量の尺度である。結果、全ペアの約60%の割合で、ランダムデータと比較して有意に大きい相互情報量を示した。すなわち、鋭波リップルのクラスターと苔状細胞の膜電位変化のクラスターが有意に対応することが明らかになった。したがって、一部の鋭波リップルの情報が苔状細胞の特定の膜電位の組合せに対応しているといえる。また、記録する細胞数が多いほど、相互情報量の有意性は増加する傾向にあった。

In vitro 標本で局所神経回路の情報動態の詳細なメカニズムに迫るためには、*in vitro* 標本で見出された局所回路構造が生体動物の海馬内でも起きている現象の普遍的原理であることを示す必要がある。そこで本研究で大内は、ウレタン麻酔下のマウスの苔状細胞から *in vivo* パッチク

ランプ記録と海馬 CA1 野から局所場電位の同時記録を行った。苔状細胞の同定は、ビオシチンによる記録細胞の形態の可視化に加え、苔状細胞のマーカである GluR2/3 抗体の免疫組織化学染色により行った。局所場電位と苔状細胞の *in vivo* パッチクランプ記録の同時記録したデータ 6 例から、得られた全ての鋭波リップルをウェーブレット変換により抽出した特徴量に基づき、Affinity Propagation を用いて、鋭波リップルを 4 つにクラスタリングした。そして、4 つの各クラスタに割り当てられる鋭波リップル発生時における苔状細胞の膜電位応答の平均を算出した。クラスタ毎に各細胞の膜電位応答の数値を 1 万回シャッフルすると、クラスタ #2 と #4 で膜電位応答の SD が有意に高かった。すなわち苔状細胞が特定の情報を有する鋭波リップルに対して有意に応答することを示唆した。

本研究では、閾値下膜電位を複数の細胞から同時に記録を行い、情報理論解析に適用することで、今までのユニット記録による研究では明らかにされなかった発火閾値下の情報動態の解明に迫った。その結果、鋭波リップルに対応した閾値下膜電位の情報が苔状細胞に集団単位で符号化されるという仮説を立証し、個々の苔状細胞においても閾値下膜電位レベルで鋭波リップルの情報が符号化されることを示した。また、全ての苔状細胞に均一に情報が符号化されるのではなく、複数の苔状細胞が相互に作用することで、海馬と歯状回間の情報伝達に協調的、排他的に働く可能性があることを示した。本研究は、長年進展がなかった海馬から歯状回への逆行性の情報伝達の礎となる知見を提供し、その生理的意義に迫る足掛かりとなることが期待される。

よって本論文は博士（薬学）の学位請求論文として合格と認められる。