

論文の内容の要旨

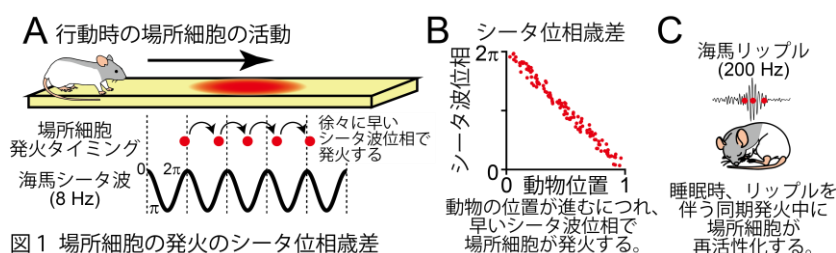
論文題目 ニューロフィードバックによる海馬シータ位相歳差の誘導

氏名 青木 勇樹

【序論】

海馬は空間記憶やエピソード記憶の形成に重要な役割を持つ脳領域である。海馬の神経活動は動物の行動時と睡眠時で大きく異なることが知られている。動物の行動時、海馬ではシータ波と呼ばれる 8 Hz 程度の脳波が記録され、一部の海馬神経細胞は動物が特定の場所（場所受容野）を通過するときのみ発火を示す場所細胞として活動する。一方、睡眠時にはリップルと呼ばれる 200 Hz 程度の高周波帯域の脳波が不規則なタイミングで生じ、それに伴って行動時に活動した場所細胞が再活性化する。これらの神経活動は、記憶の獲得・固定化に寄与すると考えられている。

行動時に生じる場所細胞の発火は、シータ波と関連を持つことが知られている。シータ波の位相と場所細胞の発火タイミングを比較すると、動物が場所受容

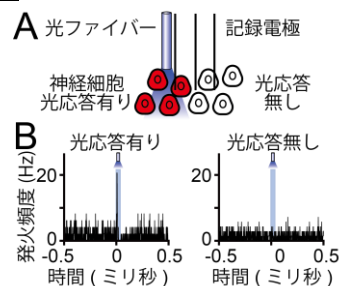


野に侵入する際には、シータ波の位相の後半で場所細胞が発火し、動物が場所受容野内を進むにつれてシータ波の位相の前半で発火ようになる（図 1 A）。このように、場所細胞の発火がシータ波の位相に対して前進する現象は、「シータ位相歳差」と呼ばれている（図 1 B）。近年、このシータ位相歳差を阻害すると、その後の睡眠時における場所細胞の再活性化が阻害されることが示された。このことから、シータ位相歳差は、睡眠時の再活性化を誘導する役割を持つと考えられている。では、行動時に海馬神経細胞にシータ位相歳差を誘導すると、その後の睡眠時に再発火を示すだろうか。本研究では新規に開発した神経活動の記録系とニューロフィードバックを用いてシータ位相歳差を海馬神経細胞に誘導し、睡眠時における発火活動を解析することで、シータ位相歳差が持つ役割に迫ることを目的とした。

【結果・考察】

1. オプト電極セットを作製し、神経活動の記録・操作系を確立した。

記録電極を用いた神経活動記録手法と、光遺伝学を用いた神経活動操作手法を組み合わせ、神経活動の記録と操作を同時に行う実験系を確立した。記録電極に光ファイバーを貼り付けたオプト電極セットを作製した。ラットの海馬 CA1 野にウイルスベクターを用いて、光活性化非選択的陽イオンチャネルであるチャンネルロドプシン 2 を発現させた。このラットの海馬 CA1 野にオプト電極セットを刺入した（図 2 A）。記録結果の代表例を図 2 B に示す。一部の海馬神経細胞が光照射に応じて発火を示したことから、海馬神経活動の記録・操作系の確立に成功したと判断した。



A. 神経活動記録・操作系の模式図。
B. 一部の海馬神経細胞は光照射に応じて発火数を増加させた。

2. シータ位相歳差を誘導するニューロフィードバックを確立した。

次に、海馬神経細胞にシータ位相歳差を誘導する刺激系を確立した。シータ位相歳差は、動物の場所と海馬シータ波の両方に依存する現象である。この現象を人工的に模倣するため、動物の場所、シータ波をリアルタイムに記録・解析し、

特定の条件を満たすタイミングでのみ光刺激を行うニューロフィードバックの開発を行った (図3A)。本研究の行動課題には、ラットの行動をなるべく単純にするため1本道を往復するトラック課題を採用した (図3B)。トラックの一部の箇所を刺激エリアとし、ラットがこの範囲を左から右に通過したときのみ、光刺激を行った。

ニューロフィードバックを用いて、シータ位相歳差の誘導を行った結果を図3Cに示す。図3C左は光刺激タイミングの代表例である。徐々に早いシータ波の位相で光刺激を行うことに成功した。図3C右は照射タイミングにおける、ラットの位置とシータ波の位相をプロットしたものである。シータ位相歳差を模倣するタイミングで刺激を行うことに成功したことが確認できる。また、シータ波に依存せずランダムなタイミングで刺激を行うランダム刺激システムの開発を行った。ランダム刺激システムの刺激結果を図3Dに示す。図3Cと同様に、光刺激を行った際のラットの位置とシータ波の位相をプロットすると、シータ位相歳差光刺激時とは異なり、シータ位相に依存しないランダムなタイミングで刺激を行った。これらのシステムを用いることにより、シータ位相歳差の誘導が神経活動に与える影響の解析が可能になった。

3. シータ位相歳差を誘導した細胞は、アフターコントロールにおいて類似した発火を示した。

上記ニューロフィードバックを用いて、シータ位相歳差の誘導が海馬神経活動に与える影響を検証した。睡眠時における再発火への影響、その後の場所細胞の発火の安定性への影響を検証するため、図4Aに示す実験パラダイムを設定した。

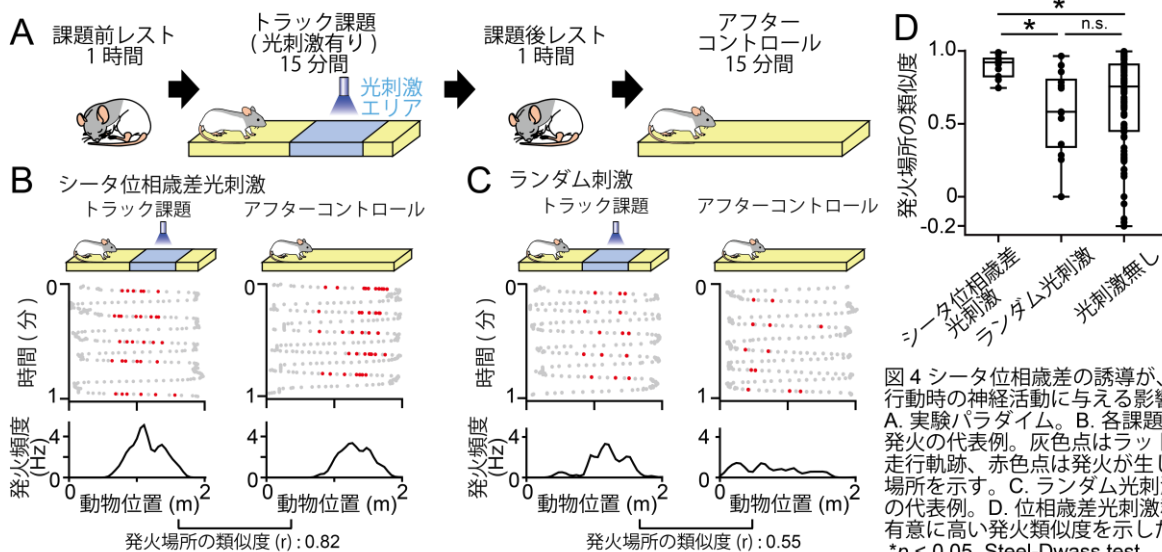


図4 シータ位相歳差の誘導が、行動時の神経活動に与える影響
A. 実験パラダイム。B. 各課題中の発火の代表例。灰色点はラットの走行軌跡、赤色点は発火が生じた場所を示す。C. ランダム光刺激時の代表例。D. 位相歳差光刺激群が有意に高い発火類似度を示した。
* $p < 0.05$, Steel-Dwass test.

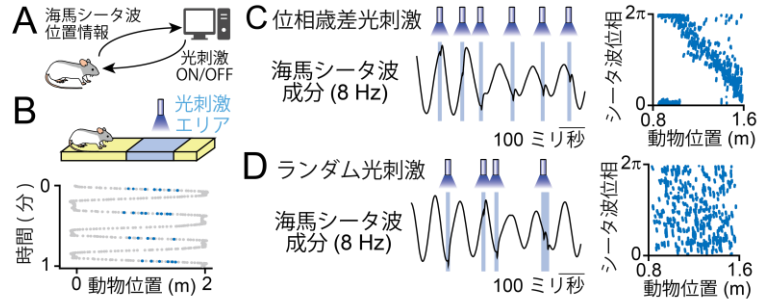


図3. (A) ニューロフィードバックシステム。海馬シータ波と位置情報から刺激タイミングを決定する。(B) 行動課題中にニューロフィードバックを適用。灰色点はラットの走行軌跡、黒色点は照射タイミングを示す。(C) 左: 位相歳差光刺激の代表例。右: 位相歳差発火を模倣した刺激が行われた。(D) ランダム刺激結果。シータ波に依存しないタイミングで刺激が行われた。

まず、場所細胞の発火の安定性への影響について検証を行った。ポストアレスト後に再び同じトラック課題を、光刺激を行わないアフターコントロールとして行った。各課題中に記録された発火を比較すると、シータ位相歳差光刺激群においては課題間で類似した発火が記録された(図4B)。各群について、課題間の発火の類似度を比較すると、シータ位相歳差光刺激群が他群に比べて有意に高い発火の類似度を示した(図4D)。

4.シータ位相歳差を誘導した細胞は、ポストアレストにおいてリップル中の発火率が上昇した。

次に、睡眠時の再活性化への影響を検証した。シータ位相歳差を誘導した海馬神経細胞について、課題前レスト(光刺激前)、課題後レスト(光刺激後)において記録されたリップル中の発火頻度を算出した(図5A)。課題前レストと課題後レストにおけるリップル中の発火頻度を比較すると、課題後レストにおけるリップル中の発火頻度が有意に増加した(図5B)。ランダム光刺激時や、光刺激が行われなかった場合には発火頻度の有意な増加が生じなかったことから、シータ位相歳差の誘導がその後の睡眠時における再活性化を誘導することが示された。以上の結果から、シータ波に依存した周期的な発火が、長期増強と呼ばれるシナプス伝達効率の変化を引き起こし、上流の脳領域からの入力を反映しやすい状態に変化させる可能性が考えられる。

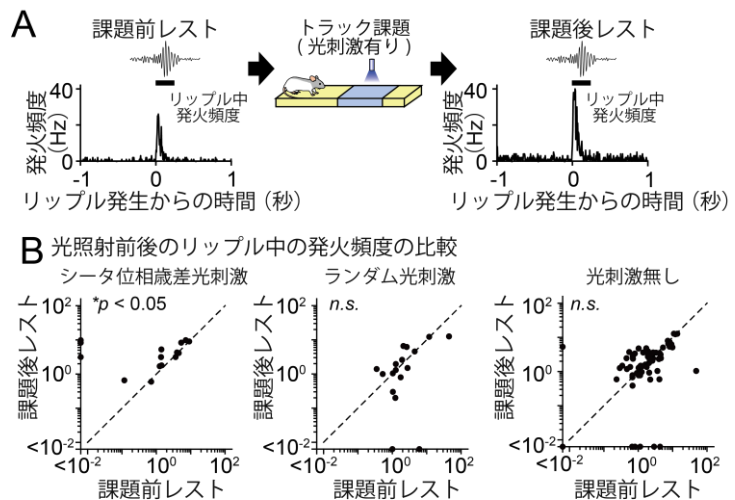


図5 シータ位相歳差の誘導が睡眠時の神経活動に与える影響
A. プレレスト、ポストアレストにおけるリップル中の発火の代表例。
B. 各レストにおけるリップル中の発火頻度を比較。
* $p < 0.05$, Wilcoxon signed-rank test.

【総括】

本研究は、ニューロフィードバックを用いてシータ位相歳差を誘導することにより、行動時のシータ位相歳差がその後の睡眠時における再活性化を誘導すること、動物を環境に再提示した際に類似した発火パターンを示すことを明らかにした。これまで技術的な困難さから明らかにされなかったシータ位相歳差の持つ役割を示唆した点で本研究は重要であり、記憶の獲得・固定化の基盤となる神経活動を明らかにする足掛かりとなることが期待される。