

審査の結果の要旨

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

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するようになる。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。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。そこで、本論文において青木は、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て研究を行った。

初めに青木は、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。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・操作系を確立したと判断した。

次に青木は、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を開発した。青木はこのニューロフィードバックを用いて、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。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。こちらのニューロフィードバックを用いることで、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。

青木は、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。特に、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した。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。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。

次に青木は、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。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。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示唆された。

本論文において青木は、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論文は重要であり、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。

よって本論文は博士（薬科学）の学位請求論文として合格と認められる。