

## 論文の内容の要旨

### 論文題目

## 嫌悪刺激および報酬に対する背側-腹側海馬の活動

氏名 岡田 桜

### 【序論】

海馬は、動物が空間の認識や記憶の形成を行うにあたり重要な脳領域である。海馬には、動物がある特定の場所に存在するとき特異的に活動する細胞（場所細胞）が存在することがよく知られているが、近年では、さらに報酬や目的地などに依存した発火活動を示す細胞の存在も報告されている。このような行動時の活動に加えて、動物が行動した後の睡眠時や安静時には、海馬においてリップルと呼ばれる高周波帯の脳波が間欠的に観察される。このリップル発生時には、場所細胞など行動時に活動した細胞が同期的に再活性化され、記憶の固定化に重要な役割を持つことが示されている。

海馬は背腹軸方向に長い形状を持つが、背側と腹側の海馬の神経連絡は解剖学的に異なる。例えば、背側海馬が主に嗅内皮質や海馬台へ投射を持つ一方で、腹側海馬は扁桃核や側坐核などの領域へ投射を持つ。また、2つの領域は機能的にも異なる役割を担うことが示唆されている。薬物処理や破壊実験などから、背側海馬が主に空間や文脈の情報処理に関わる一方で、腹側海馬は主に不安や報酬のような情動発現に関わることを示唆されている。しかし、具体的な神経活動を調べた先行研究の殆どにおいては、神経活動記録は背側海馬からのみ行われてきている。一方、腹側海馬は脳の深部に存在し、電極や光ファイバーのアクセスの難度が高く、詳細な計測が殆ど行われていない。

そこで本研究では、情動に関わる要素である嫌悪刺激や報酬に対して、腹側海馬の神経細胞がどのように応答するか（情動記憶のコード）、睡眠時や安静時にどのように再活性化されるか（記憶の固定化）、また、そのような神経活動が背側海馬とどのように異なるか比較することを目的とした。

## 【結果・考察】

### 1. 自由行動下のラットから背側および腹側海馬神経活動を記録する実験系を確立した。

上記の目的を達成するためには、背側及び腹側海馬神経活動を同時に記録できる手法が必要である。そこで本研究ではまずこれら2領域からの同時記録系の構築を行った。記録には多数の記録部位が並んでいるシリコンプローブ電極を用いた。そして、これらの電極を保持し、標的脳領域に到達させることができる部品を独自に設計し、3D プリンタを用いて作成した。これにより、同側の背側及び腹側海馬の神経活動を自由行動下のラットから同時に記録することを可能にした。

### 2. 環境内の一部に嫌悪刺激及び報酬が存在する行動試験系を構築した。

嫌悪刺激及び報酬に対する海馬神経細胞の活動を記録するために、動物がこれらを繰り返し経験する行動試験系を構築した。本課題では、ラットがスタート地点から中央上部の delay ゾーンを通過し、スタート地点と反対側の経路を選択することで報酬を得ることができる。また、delay ゾーン直後の左右いずれかの位置に嫌悪刺激として強い空気を吹きかける刺激であるエアパフ刺激を提示した。本課題では、エアパフ刺激通過後に報酬を獲得できるという状況を作成することで、エアパフ刺激に対する神経活動を繰り返し記録することを可能にした。本課題遂行時に、ラットが各トライアルで正解の経路を選択した割合を比較したところ、エアパフの有無による正解率に有意な差は見られず、正解率は8割程度に保たれた。これにより、嫌悪刺激及び報酬を繰り返し経験する行動試験系を構築できた。

### 3. 嫌悪刺激・報酬に反応する神経細胞は背側海馬に多い

行動試験遂行時の神経活動の解析を行った。まず、個々の神経細胞のエアパフに対する反応性を解析した。エアパフの提示開始タイミングを0とした前後5秒間の発火率を比較し、有意に異なるものをエアパフ反応性の細胞と定義した。同様に報酬の提示開始前後2秒間の発火率を比較し、報酬反応性の細胞を定義した。さらに、すべての記録細胞のうち各刺激への反応性の細胞の割合を算出し、背側海馬と腹側海馬で比較したところ、有意な差が観察された。このことから、背側海馬では腹側海馬に比べてより多くの反応性細胞を保持していることが示され、本課題中においては背側海馬がより強く活動していると考えられる。

### 4. 背側および腹側海馬のリップルは、領域間では同期発生する頻度が低い

上記で観察された反応が行動試験後にどのように記憶として固定化されるかを調べるため、課題終了後にラットをレストボックスに入れ、安静・睡眠時の神経活動について解析を行った。背側及び腹側海馬で観察されるリップルの同期度合いを調べた。背側、腹側海馬に刺入された4本、8本の電極先端部で記録された脳波からリップルを定義し、領域内の電極間での同期度合い及び領域間の電極間での同期度合いを算出した。すると、背側海馬の電極同士および腹側海馬の電極同士の同期度合いと比較して背側海馬と腹側海馬の間での同期度合いは低い傾向が見られた。このことから、背側及び腹側海馬でのリップルは一部独立に生じており、記憶の固定のプロセスも独立に生じることが推察される。

## 5. 背側・腹側海馬の神経細胞は各領域のリップル時に活動を上昇させる

記憶の固定時の海馬神経活動についてより詳細に調べるため、リップル時の各細胞の活動について解析を行った。各領域で検出されたリップルのピークタイミングを0秒とし、前後1秒間の発火を検出し発火タイミングのラスタプロットを作成した。さらにこれを基に発火率を算出したところ、腹側海馬神経細胞の多くでは、腹側海馬リップル発生時には発火率の上昇が見られた一方で、背側海馬リップル発生時にはこの上昇は観察されなかった。同様に、多くの背側海馬細胞では背側海馬リップル時にのみ発火率の上昇がみられた。このことから、背側及び腹側海馬におけるリップル発生時には異なる細胞集団が活動し、異なる内容の記憶が固定されていると考えられる。

### 【総括】

本研究では独自に開発した記録手法と行動試験系を用いることで背側及び腹側海馬神経活動を自由行動下の動物から記録し、その比較を行った。そして、背側海馬神経細胞の方が嫌悪刺激や報酬に反応する割合が高いこと、また、記憶の固定時には背側及び腹側海馬は独立に活動していることを明らかにした。以上の結果から、嫌悪的刺激を伴う空間課題においては背側海馬が強く情報をコードしており、独立に記憶として固定されることが推察される。過去の知見から、情動に関わるとされる腹側海馬が本行動課題においても強く活動すると予想していたが、そのような結果は観察されなかった。この理由として、本課題では環境の一部として情動に関わる情報が保持される必要があるため、空間情報を強く保持する背側海馬による応答が優性であったと考えられる。

### 【参考文献】

1. Okada S., Igata H., Sakaguchi T., Sasaki T., Ikegaya Y., A new device for the simultaneous recording of cerebral, cardiac, and muscular electrical activity in freely moving rodents., *J Pharmacol Sci.*, 132(1):105-108., 2016.
2. Okada S., Igata H., Sasaki T., Ikegaya Y., Spatial representation of hippocampal place cells in a T-Maze with an aversive stimulation., *Front Neural Circuits.*, 11:101, 2017.
3. Abe R.\*, Okada S.\*, Nakayama R.\*, Ikegaya Y., Sasaki T., Social defeat stress causes selective attenuation of neuronal activity in the ventromedial prefrontal cortex, *Scientific Reports*, 9:94447, 2019 \*共同筆頭著者