

# 論文の内容の要旨

## 論文題目：海馬シナプス活動の自己制御

氏名 石川 大介

### 【研究背景】

オペラント条件づけとは、特定の自発行動と刺激（報酬または懲罰）との連合性を学習することで、その後その行動が生じる頻度に変化する現象である。ミクロの視点で見れば、「学習」とはより好ましい結果を得られるように神経回路が可塑的に変化することである。行動は対応した神経活動により惹起されるため、行動の背景にある神経回路の可塑的な変化を詳細に検討するために、「神経活動」と報酬（または懲罰）刺激との連合性を学習させる、ニューラル・オペラント条件づけが行われてきた。サルの運動皮質ニューロンや、ヒトの側頭葉ニューロンの活動電位（以下、発火）が、報酬（または懲罰）により随意に制御されることが示されてきた。しかし、従来の先駆的な研究は、制御されたニューロンの発火が、様々な外界の特徴（行動、認知、意識、報酬など）と相関があることから、必ずしもニューロンの活動のみを選択的に制御しているとは言いきれない。また、ニューロンの発火（出力）のみを記録できる手法を用いていることから、発火制御を担うシナプス活動（入力）の動態については明らかでない。そこで、行動などを伴わず、発火やシナプス活動に対して純粋に条件づけを行うための実験系を構築してきた。

海馬は、運動との直接の関連性が低く、記憶に関連した特徴的な神経活動を示し、報酬系神経核と密に連携している。このことから、海馬ニューロンの神経活動を条件づけることにした。また、従来のオペラント条件づけで報酬に用いられてきた「えさ」では獲得のために運動を伴い、さらに報酬系の活性化タイミングを制御できない。このことから、代表的な報酬系神経核である外側視床下部に電気刺激を与えること

で、報酬を与えることにした。さらに、自作したオンライン解析システムと組み合わせることで、リアルタイムに神経活動を解析できる。これにより、特定の神経活動パターンの出現直後に報酬系を電気刺激することが可能となった。これらを組み合わせることで、外界の影響と切り離れた、「脳内完結型の純粋なニューラル・オペラント条件付け」が初めて可能となった。本研究では、ニューラル・オペラント条件づけにより、海馬ニューロンの発火の自己制御性、自己制御のシナプス活動動態、および自己制御の調節機構を検討した。

## 【方法・結果】

### 1. 発火（出力）の強化

覚醒下マウスの背側海馬 CA1 野ニューロンより、細胞接着記録を行い、発火を記録した。海馬ニューロンは大分すると 2 種類の発火パターンを示すことで知られている。一つは、単発発火、もう一つは、バースト発火である。バースト発火は、他の発火と異なり、神経回路の下流へ高確率で出力することができる。そこで、バースト発火に対する条件づけを行うことにした。バースト発火は、100 Hz 以上の頻度で、3 回以上の発火を示す。「バースト発火の出現の 50 ミリ秒以内に、外側視床下部へ 0.5 秒間電気刺激する」条件づけを、25 分間行った。その結果、条件づけを開始してから徐々にバースト発火の頻度が上昇していき、15 分程度でバースト発火の頻度が 150%程度まで強化されることが示された (図 1A、橙)。一方、その時単発発火の頻度は強化されなかった (図 1B)。次に、NMDA 受容体の関与を検討するため、NMDA 受容体の阻害薬である MK801 を前処置したマウスで条件づけしたところ、強化されなかった (図 1A、緑)。さらに、バースト発火の発生タイミングと無関係に報酬刺激したところ、強化されなかった (図 1A、灰)。これらのことから、マウスは 15 分という短時間に、バースト発火と報酬との連合性を学習したことが示唆された。次に、強化の経路特異

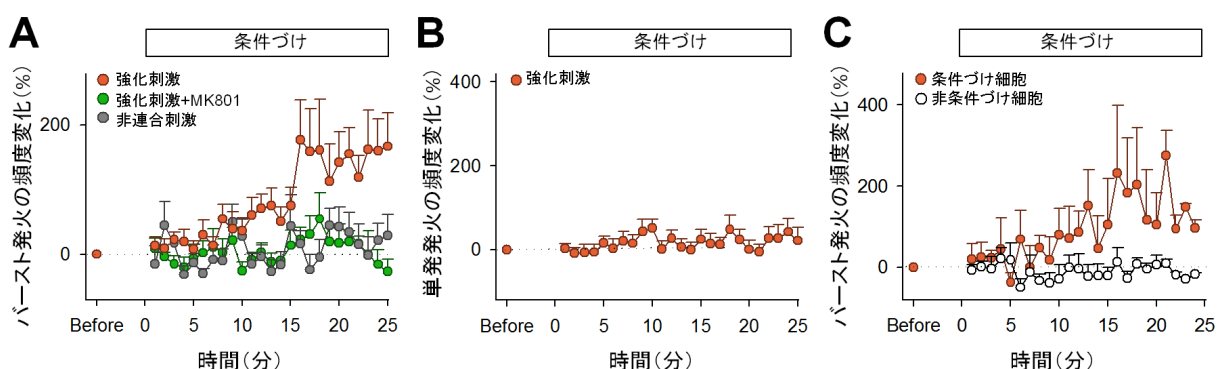


図 1. バースト発火頻度の選択的強化 A. バースト発火に対する条件づけ時、強化刺激(橙)、MK801 投与下マウスでの強化刺激(緑)、およびランダムな強化刺激(灰)による、バースト発火の頻度変化。B. A の強化刺激群の単発発火の頻度変化。C. 2 細胞より同時に発火を記録し、一方の細胞のバースト発火に対する条件づけ時の、条件づけおよび非条件づけ細胞のバースト発火頻度変化。

性について検討するために、同一個体の同側海馬 CA1 野の 2 細胞より同時に発火を記録し、任意の一方の細胞のバースト発火に選択的に条件づけを行った。その結果、条件づけされた細胞ではバースト発火頻度が強化された一方、非条件づけ細胞では強化されなかった (図 1C)。このことから、バースト発火の発生に関わる特定の神経回路が、選択的に強化されることが示唆された。

## 2. シナプス活動 (入力) の強化

バースト発火を引き起こすのは、大きな興奮性入力である。バースト発火の強化を引き起こす背景メカニズムを検討するため、海馬 CA1 野ニューロンより電位固定記録を行い、特定の興奮性入力に対して条件づけを行うことにした。まず、条件づけ前の興奮性入力の状態を、興奮性入力の大さの分布を作成することで解析した。バースト発火を引き起こす興奮性入力は、分布の上位 1%の強度の入力に相当する。そこで、上位 1%の興奮性入力強度を閾値として設定し、閾値を超えた強度の興奮性入力の発生に対し、50 ミリ秒以内に外側視床下部へ電気刺激することで、条件づけを行った。その結果、閾値を超えた興奮性入力の頻度は、バースト発火と同様のタイムコースで強化された (図 2A)。一方で、その時、閾値を超えた興奮性入力の「強度」 (図 2B) や「閾値下の」興奮性入力の頻度 (図 2C) は強化されなかった。次に、MK801 を前処置したマウスで条件づけした場合 (図 2A、緑) や、閾値を超えた興奮性入力の発生と無関係なタイミングで条件づけした場合 (図 2A、灰) では、強化されなかった。さらに、報酬以外の神経核への刺激で条件づけした群でも、強化されなかった (図 2A、紫)。これらのことから、バースト発火の強化は、上位 1%の強度閾値を超えた興奮性入力に、(i) 選択的に、(ii) NMDA 受容体依存的に、(iii) 報酬との連合学習により強化されたことに起因することが示唆された。

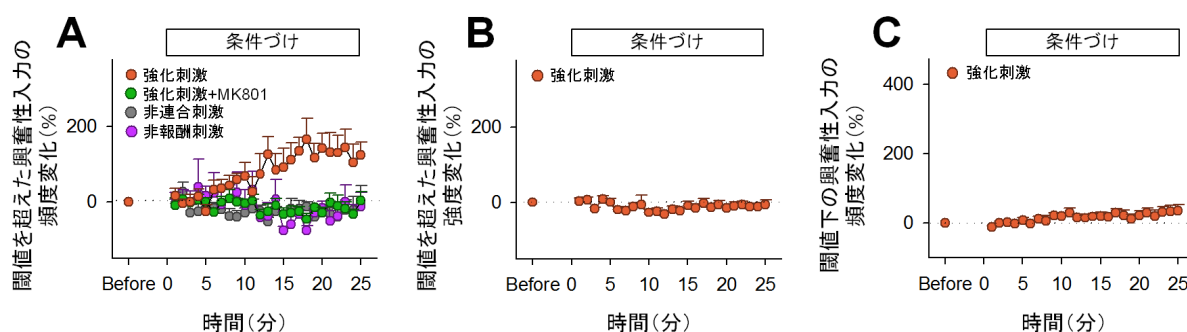


図 2. 閾値を超えた興奮性入力の選択的強化 A. 閾値を超えた興奮性入力に対して条件づけ時、強化刺激 (橙)、MK801 投与下での強化刺激 (緑)、ランダムな強化刺激 (灰)、報酬以外の連合刺激 (紫) による、閾値を超えた興奮性入力の頻度変化。B. A の強化刺激群の、閾値を超えた興奮性入力の「強度」変化。C. A の強化刺激群の、「閾値下の」興奮性入力の頻度変化。

### 3. モチベーションによる強化の調節

麻酔下でも同様の強化が生じるかどうか検討するため、ウレタン麻酔下の海馬ニューロンのバースト発火に対して条件づけを行った。その結果、バースト発火頻度は強化されなかった (図 3A)。このことから、バースト発火の強化には動物の意図が関与すると考えた。内的な動機が強化に与える影響を検証するため、ドパミン D<sub>1</sub> 受容体の選択的阻害薬である SCH23390 を前処置してから、条件づけを行った。その結果、強化が障碍された (図 3B)。次に、強制水泳試験を 1 日目 15 分間、2 日目 5 分間行うことで、急性ストレスを負荷した、絶望またはうつ様モデルマウスで条件づけを行った。その結果、強化が障碍された (図 3C、赤)。この障碍は、抗うつ薬であるフルオキセチンを 1 日目と 2 日目の試験の間に 3 回投与することにより回復した (図 3C、青)。このことから、バースト発火の強化には意図または内発的動機が関与することが示唆された。

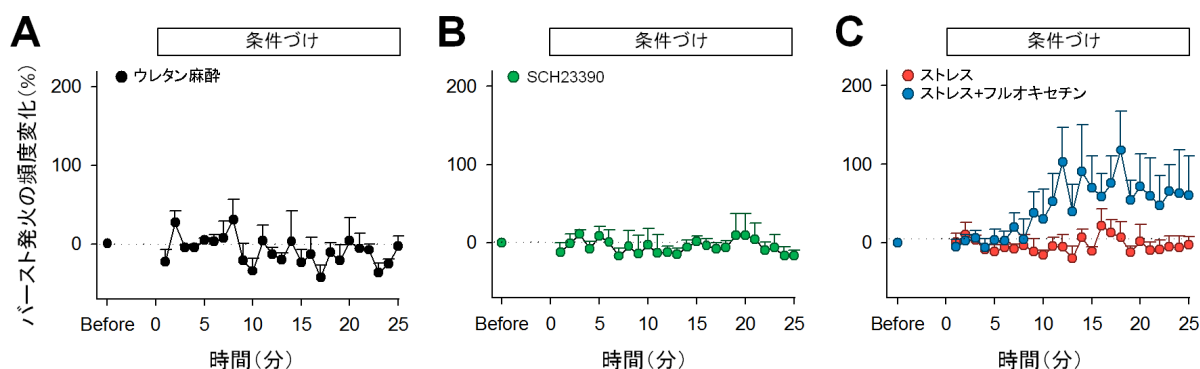


図 3. バースト発火強化のモチベーションによる制御 A. ウレタン麻酔下マウスでバースト発火に対する条件づけ時の頻度変化。B. ドパミン D<sub>1</sub> 受容体阻害薬 SCH23390 投与下マウスで条件づけ時の、バースト発火の頻度変化。C. 1 日目 15 分間、2 日目 5 分間の急性ストレスを負荷したマウス (赤) またはストレス負荷の間にフルオキセチンを投与したマウス (青) の、バースト発火に対する条件づけ時の頻度変化。

#### 【考察】

本研究の結果から、マウスは事前トレーニングなく、海馬の特定の発火および興奮性シナプス活動を、短時間かつ経路選択的に強化 (自己制御) できることが明らかとなった。本結果は、記録ニューロンに投射する上流の特定の細胞集団が、報酬との連合学習でより高頻度に活動するようになった結果であると考察される。

従来の研究では、神経補綴の目的で、主に運動皮質のニューロンの発火パターンが注目されてきた。本研究で、皮質よりも海馬ニューロンの活動の方が、短時間で自己制御可能であることも示唆された (本論にデータを示す)。このことは、海馬ニューロンの活動の神経補綴機器への応用、精神疾患の臨床治療への応用可能性を示唆する。本研究で運動やえさを伴わず、脳内完結型のオペラント条件づけに初めて成功した。本実験系は、学習の本質である神経活動に純粹に迫る、優れた実験プラットフォームになると期待される。