

Title	Two-dimensional neural activity mapping of the entire population of hippocampal CA1 pyramidal cells responding to fear conditioning
Author(s)	井上, 浩太郎
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/45623
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏 名 井 上 浩 太 郎

博士の専攻分野の名称 博 士 (理 学)

学 位 記 番 号 第 1 9 2 0 9 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 17 年 3 月 25 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項該当
理学研究科生物科学専攻

学 位 論 文 名 Two-dimensional neural activity mapping of the entire population of hippocampal CA1 pyramidal cells responding to fear conditioning
(文脈的恐怖条件付けにตอบสนองする全海馬錐体細胞神経活動の二次元的マッピング法)

論 文 審 査 委 員 (主査)
教 授 小 倉 明 彦

(副査)
教 授 吉 川 和 明 助 教 授 奥 村 宣 明
主 任 研 究 員 (三 菱 化 学 生 命 科 学 研 究 所、横 浜 国 立 大 学 客 員 教 授) 井 ノ 口 馨

論 文 内 容 の 要 旨

海馬は空間学習や文脈学習などの学習記憶の符号化、保持、想起に必須の領域である。海馬の求心性・遠心性連絡や海馬内の各サブリージョン間連絡は地勢的に投射しており、各サブリージョン内でも領域特異的に特定の生理機能へ貢献する可能性が示唆されている。実際に破壊実験から、背側海馬は皮質性の情報が貢献する空間学習や認知学習に、腹側海馬は辺縁系の情報が貢献する恐怖条件付け文脈学習に重要な役割を果たす事が明らかにされている。海馬での情報処理過程に理解を深めるためには、海馬サブリージョン内での長軸に沿った領域特異的機能分担についてのより詳細な知見が求められているが、高解像度で海馬全体の神経活動を解析する手法がないため、さらに脳内での海馬の立体的構造の複雑さから、生理的入力に対する領域特異的機能分担の解析は非常に困難だった。

本研究では、*Arc* の遺伝子発現誘導を神経活動の指標として、CA3 領域の一部を除くすべての錐体細胞の神経活動を平面的に可視化する新規のマッピング法を開発した。無傷海馬に球表面状に局在する錐体細胞層を平らにした後、その面に沿った連続切片 (*tangential sections*) を作成した。海馬全体を網羅するためには、通常切片では膨大な枚数を必要とするが、この切片では 30 枚以内の連続切片に CA3 領域の一部を除くすべての錐体細胞を包含出来た。これらの切片の核染色像を正確に重ね合わせることで CA3 領域の一部を除く全錐体細胞を平面再構築し、そのサブリージョンマップを作製した。さらに *in situ hybridization* 法により検出したこれらの切片における *Arc* mRNA の発現から、海馬錐体細胞全体の相対的な神経活動を可視化することに成功した。

次に私は、腹側海馬が貢献する恐怖条件付け文脈学習を施したラットにこの手法を適用した。初めて条件付けを経験したラットでは海馬長軸に沿った中央部で最も高い神経活動が検出されたが、過去に条件付けを経験した事があるラットでは相対的な神経活動が腹側にシフトしており、特に *ventral-proximal CA1/subiculum* での神経活動の上昇が観察された。この領域は、海馬同様に恐怖条件付け文脈学習に必須の役割を果たす扁桃体との求心性・遠心性線維が収束することが報告されており、この結果は繰り返された恐怖条件付けによる海馬-扁桃体間連絡の強化を反映している可能性が示唆された。

本研究で開発した *tangential sections* による海馬平面再構築法は、CA3 領域の一部を除くすべての錐体細胞層の

神経活動を1細胞レベルの高解像度で可視化する事を可能にした。また、この手法により様々な生理的入力に対する海馬全体での神経活動を解析する事で、同じサブリージョン内での領域特異的機能分担についてのより詳細な解析を可能にした。

論文審査の結果の要旨

海馬神経活動のマッピング（活動した神経細胞としなかった細胞を地理的に表示する技術）は、従来、多数の脳横断切片像を集積して再構成することで行われてきた。井上浩太郎君は、摘出海馬を平面的に整形して凍結し、表面と平行な切片を作ることで活動細胞を一挙にマッピングする新しい方法を開発した。この方法は、細胞サイズまでの分解能をもち、今後種々の学習課題に適用可能な有力な方法となろう。

井上君は、このマッピング法を、神経活動と平行して発現する最初期遺伝子 *Arc* の *in situ hybridization* と組み合わせ、恐怖学習を行ったラットで海馬のどの部分が活動するかを調べたところ、刺激直後に海馬全体に見られた活動が、時間の経過とともに扁桃体近傍領域（腹側）に移動することを見出した。この結果は、恐怖学習と海馬-扁桃体間の回路強化を可視的に示したものとして重要である。

これらの成果は、神経科学の研究に新技術と新知見を提供するものであり、博士論文としての水準に達していると認められる。