

博士学位論文審査要旨

2022年2月2日

論文題目： The Reconfigurable Maze System for Studying the Neural Underpinning of Spatial Cognition and Navigation
(空間認知とナビゲーションの神経基盤を研究するための再構成可能迷路システム)

学位申請者： 星野 諭

審査委員：

主 査： 脳科学研究科 教授 櫻井 芳雄
副 査： 脳科学研究科 教授 貫名 信行
副 査： 脳科学研究科 教授 元山 純

要 旨：

本研究は、海馬の場所細胞の研究を促進するために新たな実験システムを開発し、そのシステムの妥当性を実験で検証した意欲的な研究である。まず、単一の実験室で複数の形状の迷路を実現するため、基本形状からなる通路とパーツ群を多様に組み合わせることが可能な再構成可能迷路システムを開発した。そしてこのシステムを用いることで、共通の通路及びパーツ群を実験室の床に配置された穴に差し込み組み合わせることにより、神経科学の実験でよく用いられるT迷路、W迷路、8の字迷路、十字迷路、放射迷路など、多様な迷路をきわめて短時間に構築することができた。

しかし再構成可能迷路の通路間には、組み合わせを短時間で自由に行えるように空間的なギャップが存在しており、それが動物の迷路内探索行動（ナビゲーション行動）に影響を与える可能性があった。そこでギャップの影響の有無について、動物の行動と神経細胞の活動の2点から検討を行った。まずラットの迷路内移動速度をギャップ上と通路上で比較したところ、有意な差が見られなかった。またラットの頭部の方向についても、ギャップ上で大きな変化は生じず、通路上のギャップがラットの行動を歪めていないことがわかった。

続いて、ギャップがある正方形迷路内で行動するラットの海馬CA1から神経細胞（場所細胞）の活動を記録した。そして、場所細胞の場所受容野の数および平均発火率をギャップ上と通路上で比較したところ、有意な差は見られなかった。また、場所細胞群の発火を基にしたラットの位置推定の精度についても比較したところ、ギャップ上と通路上で有意な差は見られなかった。すなわち、動物の行動および神経細胞活動の両者において、再構成可能迷路上のギャップは問題とならないことがわかった。

さらに再構成可能迷路システムの有用性を実証するため、単一の実験室内において、正方形と十字型の迷路を再構成可能迷路システムにより構築し、それぞれをラットに学習させた。その結果、ラットは両迷路を同じように十分学習できた。また、それぞれの迷路における場所細胞の活動について検証したところ、場所受容野の位置の類似度が迷路間で有意に異なっていることがわかった。すなわち、先行研究の結果と同様、迷路の形状の違いが場所受容野の位置によって符号化されていることが明らかになった。

以上の結果から、本研究が開発した再構成可能迷路システムは、動物の空間認知やナビゲーションの神経メカニズムを解明するために有力な装置であることがわかった。

よって、本論文は、博士（理学）（同志社大学）の学位を授与するにふさわしいものであると認められる。

総合試験結果の要旨

2022年2月2日

論文題目： The Reconfigurable Maze System for Studying the Neural Underpinning of Spatial Cognition and Navigation
(空間認知とナビゲーションの神経基盤を研究するための再構成可能迷路システム)

学位申請者： 星野 諭

審査委員：

主査： 脳科学研究科 教授 櫻井 芳雄

副査： 脳科学研究科 教授 貫名 信行

副査： 脳科学研究科 教授 元山 純

要 旨：

博士論文提出者は、2017年4月に本学大学院脳科学研究科発達加齢脳専攻一貫制博士課程に入学し、現在在籍中である。主にラットを用いた迷路学習実験と電気生理学的測定に習熟しており、特に実験システムの構築とデータ解析のプログラミングに習熟しており、それら全てを活かした研究に従事した。本博士論文の内容の一部は、iScience (2020年) に筆頭著者として既に掲載された (DOI: 10.1016/j.isci.2019.100787)。

2022年1月25日午前10時より約1時間半にわたり提出論文に関する審査会を行ない、提出者による英語でのプレゼンテーションと質疑応答を行なった。プレゼンテーションでは、研究の目的、方法、結果、結論、考察が適切に述べられ、質疑応答に関しても提出者の説明により十分な理解が得られた。更に1月27日午前9時より、審査委員により論文内容ならびにこれらに関連する脳科学分野の諸問題について非公開の口頭試問を実施した結果、本論文提出者は研究者として十分な学力と、国際的に活躍するための語学力 (英語) を有していることが認められた。

よって、総合試験の結果は合格であると認める。

博士學位論文要旨

論文題目：The Reconfigurable Maze System for Studying the Neural Underpinning of Spatial Cognition and Navigation

(空間認知とナビゲーションの神経基盤を研究するための再構成可能迷路システム)

氏名：星野 諭

要旨：

人を含む様々な動物種は、空間を認知し、目的地まで移動するナビゲーション能力を持っている。トールマンは、この能力を説明するために、心の中に身近な環境の地図があるとする認知地図仮説を提唱した (Tolman, 1948)。現在、認知地図の実体は、自分の位置を表現する場所細胞 (O'Keefe and Dostrovsky, 1971) や特定の方向への距離を表現するグリッド細胞 (Fyhn et al., 2004) などの空間認知細胞であると考えられている。

ナビゲーション能力を検証するために、これまで様々な行動実験が考案されてきた。T字迷路、十字迷路、8の字迷路、放射状迷路などの通路型迷路を用いた実験がその典型例であり、これらによって、動物に所望のナビゲーション行動を取らせることができる。さらに複雑な形状を用いた実験も盛んに考案されており、通路型迷路を用いた実験は今後ますます増えていくことが考えられる。

空間認知やナビゲーションの神経基盤を研究するに際し、単一の迷路のみを用いて神経メカニズムの解明を試みることは誤った解釈をもたらす可能性がある (Sharma, Rakoczy and Brown-Borg, 2010)。したがって、複数の迷路における実験結果を総括的に分析することは科学的な要請である。ところが、従来の迷路は容易に変形させることができないため、異なった形状の迷路実験は、それぞれ異なった実験室で行われてきた。しかし、迷路におけるナビゲーション行動は、空間認知と身体制御が相互に関連する複雑な運動である。そのため実験の結果は、通路の幅、材質、色、実験室の光量、芳香、部屋のサイズや壁紙になどによってそれぞれ影響を受けている可能性がある (Paul, Magda and Abel, 2009)。

海馬の場所細胞は特に、そのような細部の違いに敏感に反応する細胞である。場所細胞は一定の環境では安定した発火パターンを示し、それは動物の位置のみに依存している。この特定の位置は場所受容野と呼ばれるが、環境の変化に対しては敏感であり、再配置とよばれる発火パターンの変化を起こすことが知られている。特に、海馬 CA1 の場所細胞において、まったく同形の実験装置を探索する場合であっても、その装置が異なる実験室に置かれている場合には受容野の再配置を起こすことが分かっている (Leutgeb, 2005)。

以上のことから、異なる実験室で行われた実験データを比較することは間違った解釈をもたらす可能性がある。したがって、複数の迷路実験を比較するためには、単一の実験室において複数の形状の迷路を再現する実験システムの構築が求められる。

そこで本研究では、単一の実験室で複数の形状の迷路を実現するために、基本的な形状からなる通路と、それに付随するパーツ群からなる再構成可能迷路システムを開発した。通路及びパーツ群はすべて高さ 55cm の柱の上に静置され、柱の底部には 4 つの突起が設けられている。これを実験室の床に格子状に配置された穴に差し込むことによって、通路及びパーツ群を任意の場所に設置できるようになっている。この設計により、再構成可能迷路システムは精確に既存の迷路を再現することができる。実際、再構成可能迷路の通路を組み合わせることによって、典型的な迷路形状である T 迷路、W 迷路、8 の字迷路、十字迷路および放射迷路を再現することができる。

加えて、再構成可能迷路は容易かつ迅速に変形可能であり、実際、実験者の熟練度によらず、5分未満の時間で迷路形状を変形できることが示された。

迷路形状の高い自由度を達成する一方で、通路同士の物理的な干渉を防ぐために、再構成可能迷路のふたつの通路の間には空間的なギャップが存在する。そこで、このような空間ギャップがナビゲーション行動に与える影響について、動物行動と神経細胞活動の2点から検討を行った。初めに、正方形の迷路を用いた動物行動の検討を行った。この実験では、4匹のラットを訓練し、迷路を時計回りに走行させて2箇所を設置されたエサ箱から報酬を獲得する課題を十分に学習させた。ラットの減速や停止について検証するため、ラットの移動速度が周辺の値と大きく異なる場合を外れ値として検出した。移動速度の外れ値についてギャップ上と通路上での比較を行ったところ、有意な差が見られなかった。同様に、頭部向きの外れ値について比較を行ったところ、ギャップ上では通路上よりも外れ値が有意に少なかった。これらの結果から、ギャップが正常なラットの行動を歪めていないことが示唆された。

この結果を裏付けるために、3つの通路を組み合わせたものと同じ長さの、ギャップを持たないひとつつながりの通路を2本用意した。この通路を用いて、正方形迷路の一部をギャップありから、ギャップなしに変形させる行動実験を行った。この実験においてラットは、ギャップあり正方形迷路とギャップなし正方形迷路の両方について十分に行動課題を学習した。ギャップあり正方形迷路でのギャップ上の移動速度は、ギャップなし正方形迷路の対応する場所における移動速度と有意な差がなかった。また、頭部向きについても同様の結果であった。

続いて、ギャップのある正方形迷路を用いた神経細胞活動の検討を行った。4匹のラットの両側の海馬 CA1 から、合計 236 個の場所細胞の発火を記録した。最初に、ギャップ上の受容野の長さについて、モンテカルロ法によるシミュレーションを行った。すべての場所細胞の位置をランダムに変更し、ギャップ上の受容野の長さを求める操作を 3000 回行ったところ、元データの受容野の長さは分布の 5% から 95% 区間に収まることが分かった。さらに、ギャップ上の 62 個の場所細胞の場所受容野の数と、ギャップ上での海馬 CA1 の多細胞活動の平均発火率はそれぞれ、通路上の値と比較しても有意な差は見られなかった。最後に、それぞれのラットについて、場所細胞群の発火を基にした位置推定の精度について検討を行ったが、ギャップ上と通路上で有意な差は見られなかった。以上のことから、動物行動および神経細胞活動の両面において、ラットは通路上のギャップのある部分とない部分について同じように認識し行動することが示唆された。

さらに、再構成可能迷路の有用性を実証するため、正方形と十字型の迷路を単一の環境で構築し、変形させる実験を行った。2つの迷路は報酬位置を含む一部の通路を共有し、変形前後の通路の総距離は一定に保たれている。ラットは両方の迷路において、時計回りに走行して報酬を獲得する課題を十分に学習した。実験では正方形、十字、正方形の順番で迷路を変形させ、それぞれの迷路における場所細胞の活動について検証を行った。一般に、再配置前後の2つの場所受容野に対して、位置の類似度、発火頻度の類似度を計算することができる(Leutgeb, 2005)。場所受容野の位置について、正方形迷路同士の位置の類似度と、正方形迷路と十字迷路の位置の類似度を比較したところ、正方形と十字迷路の位置の類似度のほうが有意に低かった。一方、最大発火頻度について、正方形迷路同士の発火頻度の類似度と、正方形迷路と十字迷路の発火頻度の類似度を比較したところ、有意な差はなかった。以上のことから、通路の総距離を変えない迷路の変形は、場所受容野の位置によって符号化される可能性があることが明らかになった。

これらの結果から、再構成可能迷路は複数の迷路による実験を単一の環境で再現する能力があることが示唆された。また、そのような迷路の変形は容易かつ迅速に行うことができ、実験者の熟練度に依存せずに行うことができた。再構成可能迷路の空間的なギャップは、十分に学習を行った行動実験において、動物行動および海馬錐体細胞活動に影響を与えないことが示唆された。さらに、単一環境で迷路を変形させることができる再構成可能迷路を活用することで、既存の迷

路では容易に実現できない迷路変形実験を例示することができた。したがって、再構成可能迷路システムは単一環境における迷路の比較実験を可能にし、空間認知能力やナビゲーション能力を解明するための一貫した実験装置を提供する。