

博士学位論文審査要旨

2023年2月1日

論文題目： Dynamical neural activities in hippocampus and auditory cortex during the learning process of an associative memory task
(連合記憶課題の学習過程における海馬 CA1 と聴覚皮質ニューロン活動のダイナミクス)

学位申請者： 高宮 渉吾

審査委員：

主査： 脳科学研究科 教授 高橋 晋

副査： 脳科学研究科 教授 元山 純

副査： 脳科学研究科 教授 正水 芳人

要旨：

動物は、様々な刺激を受容し、その刺激に対する特定の反応との関連性を連合し学習・記憶する。このような動物の生存に不可欠な刺激と反応に関する連合記憶の保存には、脳内にある海馬と新皮質の神経細胞活動が深く関与するという記憶固定化仮説が提唱されている。その仮説では、まず連合記憶は、海馬で形成される。その後、形成された記憶は新皮質へ伝達され、そこで保存される。従来研究では、連合記憶の学習過程における神経細胞活動は、海馬あるいは新皮質のどちらかを対象としており、同一の連合記憶を学習する過程において、海馬と新皮質の違いを統一的に検証する報告はほとんどなかった。そこで本研究では、ラットが音に対する反応を連合する記憶課題を学習している際に、海馬 CA1 野と一次聴覚皮質から神経細胞活動を記録・解析し、海馬と新皮質の違いを調べた。

ラットに高音と低音を弁別する連合記憶課題を訓練した。まず、ラットに刺激—反応の規則を学習させるため、3つのノーズポークポートが設置されたオペラントボックス内にラットを入れ、ラットが中央に設置されたスタートポートにノーズポークすると高音(3 kHz) か低音 (1 kHz) のどちらかがランダムに提示され、高音ならば右ポート、低音ならば左ポートを選ぶと報酬が与えられた。そして学習成立後、ラットの海馬 CA1 野または一次聴覚皮質に複数の特殊電極 (テトロード) を刺入した。まず、複数の神経細胞活動が記録できていることを確認するため、1 週間の回復期間を設け、課題遂行中のラット海馬 CA1 野または一次聴覚皮質から神経細胞活動を記録した。その後、高音を 10 kHz に、低音を 6 kHz にそれぞれ変更することで、新たな刺激と反応の組み合わせで課題を行わせ、学習過程での神経細胞活動を測定した。この課題の開始から学習が成立するまでの期間で、神経細胞活動を記録・解析した。

海馬 CA1 野に電極を刺入した 7 匹のラットから神経細胞の活動を記録したところ、左右どちらかのポートを選択する際に発火頻度を上昇させる錐体細胞 (Choice-direction cell) が多く確認された。Choice-direction cell の割合は、学習初期、中期、成立後で変化はみられなかった。加えて、左右どちらかを選択して報酬を得たタイミングで発火頻度を上昇させる、左右ポートの方向と報酬の有無に選択性をもつ錐体細胞 (Reward-direction cell) も多く確認された。Reward-direction cell の割合は、学習完了後に減少することが示唆された。

一方、6 匹のラットの一次聴覚皮質から神経細胞活動を記録したところ、高音と低音のどちらかに対して発火頻度を変化させた神経細胞 (Frequency-selective cell) が多く存在し、これらの

神経細胞の割合が学習の進行に伴って増加することが示唆された。また、一次聴覚皮質では音に対する応答だけでなく、左右選択性や報酬選択性を持つ Reward-direction cell も確認された。一次聴覚皮質における Reward-direction cell の割合は学習中に比べ、学習成立後に増加することが示唆された。

これらの結果を記憶固定化仮説に従って解釈すると、海馬 CA1 野の Reward-direction cell は、連合記憶形成を促進する「正のフィードバック」に関与すると考えられるため、Reward-direction cell の活動が強化子として働くことで、音とポートの連合が強化され、連合記憶を形成すると考えられる。一方、一次聴覚皮質の神経細胞の多くは音または報酬に対して選択性をもつが、それらの選択性は学習の進行による変化であると考えられる。

本論文は、音一反応連合記憶課題の学習過程において、海馬 CA1 野が報酬に基づく音刺激と反応の連合に関与するのに対し、一次聴覚皮質は音や報酬を表現することを明らかにした。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

2023年2月1日

論文題目： Dynamical neural activities in hippocampus and auditory cortex during the learning process of an associative memory task

(連合記憶課題の学習過程における海馬 CA1 と聴覚皮質ニューロン活動のダイナミクス)

学位申請者： 高宮 渉吾

審査委員：

主 査： 脳科学研究科 教授 高橋 晋

副 査： 脳科学研究科 教授 元山 純

副 査： 脳科学研究科 教授 正水 芳人

要 旨：

高宮渉吾氏は、2023年1月27日13時30分から90分間に渡り実施された公聴会において、「Dynamical neural activities in hippocampus and auditory cortex during the learning process of an associative memory task」と題する学位論文の内容を英語で報告し、その後、2023年1月27日15時30分から50分間に渡り口頭試問を受けた。

学位論文では、脳内の海馬 CA1 野や一次聴覚皮質にある神経細胞の活動頻度を記録する必要があるため、行動する動物の脳内から複数の単一神経細胞活動を記録する手技や、その記録されたニューロン活動を解析する統計解析法といった研究遂行に必要な技術を習得していることが認められた。更に、その結果をまとめ、音弁別課題の学習過程において、海馬 CA1 野が報酬に基づく音刺激と反応の連合に関与するのに対して、一次聴覚皮質は音や報酬を表現することを明らかにしたため、最先端の研究活動を遂行するために必要な実験機器を操作する能力や、そのデータの解析能力が認められ、実験結果から適切な結論を導き、その結論の妥当性を検証する能力や、テスト可能な仮説の提唱を行う能力があることが示された。加えて、実験計画は、高宮氏自らが計画しており、学位研究の成果に関しては国際会議などでも発表していることから、主体性や国際交流を通じた協働性などが芽生えていることが認められた。また、英語により聴衆に対して学位論文の内容を明確に説明することができたため、研究に必要な外国語に通じていることが認められた。

以上のように、高宮氏には、脳科学研究科が求める、研究者としての知識、技能、思考力、判断力、表現力、主体性、多様性、協働性が認められた。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： **Dynamical neural activities in hippocampus and auditory cortex during the learning process of an associative memory task**
(連合記憶課題の学習過程における海馬 CA1 と聴覚皮質ニューロン活動のダイナミクス)

氏名： 高宮 渉吾

要旨：

動物は様々な刺激と行動を連合して学習し、記憶する。このような連合記憶の形成には海馬の神経細胞の活動が重要であることが分かっている。海馬は刺激と行動を統合する役割をもち、連合記憶の形成を行う。海馬で形成された連合記憶は記憶の固定化によって、新皮質へと情報が伝達され、海馬非依存になり、新皮質で保存される。しかし、連合記憶の学習過程において、海馬と新皮質の神経細胞活動にどのような変化が生じるのかは明らかではなかった。これを明らかにするために本研究では、連合記憶課題学習中のラットの海馬 CA1 と一次聴覚皮質(A1)の神経細胞活動を記録し、解析を行った。

連合記憶課題には、高音と低音の弁別課題を用いた。3つのノーズポークポートが設置されたオペラントボックスにラットを入れ、ラットがスタートポート にノーズポークすると高音 (3kHz) か低音 (1kHz) のどちらかがランダムに提示され、高音ならば右ポート、低音ならば左ポートを選ぶと正解となり、餌報酬を与えた。訓練成立後、ラットの海馬 CA1 または A1 に複数の特殊電極(テトロード)を挿入する手術を麻酔下で行った。その後、1週間の回復期間を設け、課題遂行中のラットの海馬または聴覚皮質からニューロン活動を記録した。複数のニューロンの活動が記録できていることを確認した後、高音を 10kHz に、低音を 6kHz にそれぞれ変更し、同じ課題を行わせた。この課題の開始から学習が成立するまでの期間で、ニューロン活動を記録した。

海馬 CA1 に電極を刺入した 7 匹のラットから 306 個の神経細胞活動を記録した。これらの神経細胞をスパイクの幅をもとに錐体細胞 (207 個) と介在細胞 (99 個) とに分類した。

海馬 CA1 の錐体細胞の多くが左右どちらかのポートを選択する際に発火頻度を上昇させた (Choice-direction cell)。Choice-direction cell の割合は、学習初期、中期、成立後で変化はみられなかった。また、海馬 CA1 には左右ポートの方向と報酬の有無に選択性をもつ錐体細胞が多く確認された (Reward-direction cell)。Reward-direction cell は左右どちらかを選択して報酬を得たタイミングで発火頻度を上昇させた。そしてこのような神経細胞の割合が学習完了後に減少することが分かった。

一方、A1 では、多くの神経細胞が高音と低音のどちらかに対して発火頻度を変化させた (Frequency-selective cell)。これらの神経細胞の割合が学習の進行に伴って増加することが分かった。また、A1 では音に対する応答だけでなく、左右選択性や報酬選択性を持つ神経細胞も確認された。A1 における Reward-direction cell の割合は学習中に比べ、学習成立後に増加することが分かった。

海馬 CA1 の Reward-direction cell は連合記憶形成を促進する「正のフィードバック」の役割を持つと考えられる。Reward-direction cell の活動が強化子として働くことで、音とポートの連合が強化され、連合記憶を形成すると考えられる。また、A1 神経細胞の多くは音または報酬に対して選択性をもつが、それらの選択性は学習の進行による変化であると考えられる。

以上のことから、海馬 CA1 は連合記憶の形成を促進する役割をもち、それらの情報を A1 に

伝達することにより、A1 神経細胞の音と報酬に対する選択性が変化すると考えられる。