

氏名	Cho Jiyeon		
学位の種類	博士（行動科学）		
学位記番号	博甲第 9331 号		
学位授与年月	令和元年12月31日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	Cluster-type topographic neuronal organization of the hippocampus for encoding memory（記憶における海馬神経細胞のクラスター型構築）		
主査	筑波大学教授	博士（医学）	一谷 幸男
副査	筑波大学教授	博士（理学）	松本 正幸
副査	筑波大学准教授	博士（理学）	林 悠
副査	兵庫医科大学助教	博士（医学）	中村 望

論文の内容の要旨

Cho Jiyeon 氏の博士学位論文は、恐怖記憶の符号化における海馬神経細胞のクラスター型構築、および恐怖条件づけ後の睡眠がクラスター型構築に及ぼす影響について検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

長期記憶の形成のためには海馬が必須の脳部位として知られているが、海馬の神経細胞がどのような解剖的構築を形成し記憶を保存するのか、ほとんど解明されていない。海馬の機能的な構築を明らかにするためには、十分に多数の神経細胞集団を一度に観察する必要があるが、既存の電気生理学的手法では観察できる細胞の数や範囲が限定され、海馬細胞活性の空間的分布やパターンを観察することが難しい。本研究で著者は、最初期遺伝子を神経活動の指標として利用し、それらの細胞がどのような解剖的構築を形成するのかを組織学的に検討している。また記憶課題としては、海馬依存の学習課題であるとされる文脈恐怖条件づけを用いたものである。

第1章では、本研究の背景として、海馬と記憶の関係、海馬における機能的組織化、最初期遺伝子イメージング、学習後の睡眠と記憶の関係について、先行研究の概観を行っている。

第2章では、クラスター型機能的構築が記憶処理における海馬神経細胞の解剖的仕組みとして存在しているかどうかを検討している。ラットを用いて文脈恐怖条件づけ訓練を行い、24時間後に再度その文脈に置いてフリージング反応をテストしている。統制群として同じ文脈に曝すが足への電撃がない群、文脈にも電撃にも全く曝さない群を設けている。その後90分隔離してから脳を取り出し、背側海馬のZif268免疫組織化学法を行っている。これにより、1) Zif268陽性細胞とクラスターの数、2) クラスター内の細胞数、3) クラスター間の距離を求め、さらに、観察された細胞の配置パターン(クラスタリング等)が偶然に起こっていないことを確認するため、細胞間の最短距離を算出する手法を用いてZif268陽性細胞の空間的分布を評価している。その結果、文脈恐怖条件づけに伴う海馬CA1領域神経細胞のZif268発現の有意な増加を確かめ、条件づけしたラット(文脈+電撃群)では、Zif268陽性で隣接する細胞のいくつか(平均2~3)がクラスター型で組織化されてい

ることを見出している。これらの結果は、文脈と恐怖の連合という記憶の符号化のために、海馬神経細胞がクラスター型に構築されることを示唆するものであった。

第3章では、海馬依存的な記憶固定のために学習後の睡眠が重要な役割をしているという先行研究にもとづき、海馬で観察された細胞クラスターが実際に記憶における機能的な基本単位であるならば、学習後の睡眠を妨げることによってクラスター型構築に悪影響が生じるのではないかと、著者は考えている。そこで、ラットを用いて文脈恐怖条件づけを行い、その後4時間の間に睡眠を操作して、海馬の機能的構築を調べている。条件づけの翌日に記憶テストを行い、ラットの脳を取りだしてZif268イメージング解析を行っている。背側海馬内のZif268陽性細胞の空間的分布を解析し、観察された細胞の分布パターンが偶然に起こっていないことを確認するため、最短距離を算出する手法で評価している。その結果、恐怖条件づけ後の睡眠剥奪によって、長期記憶の指標であるテスト時のフリージングが低減するとともに、睡眠を剥奪されなかった統制群ではZif268陽性隣接細胞のいくつか（平均2~4）がまとまってクラスター型構築を示したのに対して、睡眠剥奪群ではより少ない数の細胞から成るクラスターしか見られず、クラスター型構築の障害を示したとしている。

以上のことから、第4章で著者は、1) これまでに先行研究で報告されている空間記憶やエピソード記憶でのクラスター型形成をふまえると、背側海馬の錐体細胞が活性化され、空間的に隣接して位置する細胞のいくつかがクラスター型に組織化されるという細胞レベルでの仕組みが、記憶形成において普遍的に存在するのではないかと考察している。さらに、2) クラスター型構築が学習後の睡眠中になされる可能性を示唆している。

審査の結果の要旨

(批評)

本研究は、長期記憶において重要な役割を果たすとされる海馬が、海馬内のクラスター型構築によって記憶の形成、保持を支えている可能性を最初期遺伝子を神経活動の指標として利用し、行動科学および組織学的に解析したものであり、脳内の記憶処理過程を理解する上で意義のあるものである。また、学習後の睡眠が記憶の保持を促進するという知見について、クラスター型機能的構築が関わることを示唆するものであり、記憶における睡眠の役割に関する研究においても新たな知見を提供している点で学術的な価値が認められる。

令和元年10月15日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（行動科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。