

審査の結果の要旨

氏名 井上 剛

学習・記憶のメカニズムの解明において、最も重要な課題の一つは、学習中に脳内で起こっている変化をリアルタイムに観測することである。井上が修士課程において開発した、軟体動物ナメクジの単離全脳標本を用いた *in vitro* 学習系はこれを可能にするものである。本研究は、この実験系を用いて、匂い学習中において新規コントラスト増強現象を発見し、そのメカニズムを解析したものである。

コントラスト増強は、生物が自然界に存在する無数の感覚情報の中から必要な情報のみを選択的に抽出し、処理するために備わっている情報処理メカニズムの一つである。必要な情報（シグナル）を担う神経細胞が興奮し、不必要な情報（ノイズ）を担う神経細胞が抑制される。嗅覚情報処理を担う脳の領域（例えば哺乳類嗅球など）は、興奮性投射神経細胞（projection neuron; PN）と抑制性介在神経細胞（local interneuron; LN）という二種類の神経細胞によって構成されている。このような領域において、匂い認識時におけるコントラスト増強機構として、側抑制（Lateral Inhibition）が知られていた。しかしながら、匂い学習中における脳内挙動に関しては、どのようなコントラスト増強機構が存在するのか、これまでに明らかになっていなかった。

本研究の概要は、以下の(1)–(5)の通りである。

(1) ナメクジ単離脳学習系における学習中の脳内膜電位変化

ナメクジ単離全脳標本における匂いの忌避学習において、条件刺激（CS）は匂い受容体に対する誘引性の匂い刺激であり、無条件刺激（US）は求心性神経束である味覚神経束の電気刺激である。学習中、すなわち CS と US を同時に与えている際の、ナメクジ嗅覚中枢である前脳（Proocerebrum; PC）における局所場電位（LFP）振動の修飾について調べたところ、学習時において、その振幅は小さくなり、その振動数が上昇することが明らかになった。同様の LFP 振動の変化は US のみで生じることから、学習中における前脳神経細胞群の電位変化の大部分は、US によって引き起こされるものと考えられた。

(2) US 入力は前脳 projection neuron を過分極させる

US 入力によって引き起こされる前脳神経細胞の膜電位の修飾について調べた。前脳の 10^5 個の神経細胞は nonbursting neuron (PNに相当)と bursting neuron (LNに相当)という二種類に分類され、そのシナプス構造も他種の嗅覚中枢と非常に類似している。そこで前脳神経細胞からパッチクランプ法を用いて細胞内記録を行い、US の効果を調べた。US 入力である味覚神経束の電気刺激を与えると、前脳 LN におけるバースト頻度は増大した。LN から PN へは抑制性のシナプス結合が存在するので、その結果 PN への抑制入力頻度が上昇し、結果として PN を過分極させることが明らかとなった。

(3) US 入力は前脳 projection neuron における膜の興奮性を増大させる

PN の膜の興奮性が US 入力によってどのように修飾されるのかをしらべた。PN から細胞内記録下、一定の興奮性電流を注入すると、PN は活動電位を発射した。そして、US を与えつつ、

かつ同量の興奮性電流を注入すると、PN の活動電位の発射頻度が上昇することがわかった。すなわち (2) および (3) における結果は、US 入力には PN において過分極を与えるものの、膜の興奮性は上昇させることを示している。

以上の結果は、匂い学習中における、側抑制とは異なる神経メカニズムに基づく新規なコントラスト増強現象を示している。このコントラスト増強現象は、US 入力によって達成される。US 入力は PN において過分極を引き起こす一方、もし匂い入力によって PN が興奮し閾値を越えると活動電位を頻回発射させる。

(4) US 経路の同定

味覚神経束から前脳への経路を調べるために、その二つを仲介する神経細胞を同定した。この神経細胞は細胞体の直径が約 40 μm であり、ナメクジ脳において左右一対存在する、個体を越えて同定可能な神経細胞であった。その細胞体は前脳の外に存在するものの、その神経突起は高密度に前脳へ投射していることが明らかとなった。またこの神経細胞は神経修飾物質であるセロトニン含有神経細胞であることもわかった。そこでこの神経細胞を Serotonergic Facilitator neuron (SF neuron) と名づけた。味覚神経束を電気刺激すると、SF neuron には興奮性の入力が入り、活動電位を誘発した。次に SF neuron に一定の興奮性電流を注入することによって活動電位を誘発させたところ、前脳 LFP 振動は US 入力によって観察される振動の修飾と同様の変化を示した。これらの結果は US 入力による前脳神経活動の修飾は、主として SF neuron を介して行われていることを示唆している。

(5) 単一神経修飾物質セロトニンによるコントラスト増強現象の誘発

そこで前脳のみを単離した標本において、セロトニンを灌流投与した際の、前脳 PN および LN の膜電位変化について調べた。記録はパッチクランプ法による細胞内記録によって行った。セロトニンの灌流投与は、LN におけるバースト頻度を上昇させ、PN における抑制性入力の頻度を上昇させた。これは結果として PN を過分極させた。しかし一方で、セロトニン投与下における膜の興奮性の修飾に関して調べたところ、セロトニンは PN における活動電位発射頻度を上昇させることが明らかとなった。すなわちこれらの結果は、US 入力によって誘発される前脳におけるコントラスト増強現象は、単一の神経修飾物質セロトニンによって誘発されることを示した。

以上の通り、本研究は、自身で開発した *in vitro* 学習系を用いて、学習中に US 入力によって誘発されるコントラスト増強現象、およびその神経機構について明らかにしたものである。よって、本研究は、神経科学の分野に貢献するところ大であり、博士(薬学)の学位に値するものと認めた。