

令和元年6月18日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19441

研究課題名(和文)海馬CA2野の回路特性の解明

研究課題名(英文)Characteristics of hippocampal CA2 circuits

研究代表者

池谷 裕二(Ikegaya, Yuji)

東京大学・大学院薬学系研究科(薬学部)・教授

研究者番号：10302613

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文):海馬CA2野は海馬亜領域の中でも異質である。近年、その独特な空間表象や社会記憶に果たす機能が明らかになりつつあるが、長い間注目されなかった領域ゆえに局所回路はほとんど未解明である。特に、錐体細胞が互いに結合しあう興奮性再帰回路がCA2野に存在するのについては物議を醸している。私たちは、複数のCA2錐体細胞で同時ホールセルパッチクランプ記録を行い、CA2からCA2への興奮性シナプス結合を測定した。測定した数例でシナプス結合が観測され、CA2領域に再帰回路が存在することを示した。また、見つかったCA2再帰回路はCA3付近の浅層に局限していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

海馬内でCA3領域以外にも再帰回路が存在し、従来考えられてきたCA3独自機能の外でも再帰回路が働くことを示唆する。とくにCA2は記憶・学習や社会性行動などの脳高次機能だけでなく、てんかん発作にも関与することが示唆されており、今回の治験は臨床的にも意義深いものと考えている。

研究成果の概要(英文): recurrent excitatory synapses have theoretically been shown to play roles in memory storage and associative learning and are well described to occur in the CA3 region of the hippocampus. Here, we report that the CA2 region also contains recurrent excitatory monosynaptic couplings. Using dual whole-cell patch-clamp recordings from CA2 pyramidal cells in mouse hippocampal slices under differential interference contrast microscopic controls, we evaluated monosynaptic excitatory connections. Unitary excitatory postsynaptic potentials occurred in 1.4% of 502 cell pairs. These connected pairs were preferentially located in the superficial layer and proximal part (CA2b) of the CA2 region. These results indicate that recurrent excitatory circuits are denser in the CA2 region than in the CA1 region, as well as in the CA3 region.

研究分野：神経生理学

キーワード：海馬 再帰回路 CA2

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

海馬は記憶や空間把握を司る脳領域とされている。その機能の背景にある神経細胞の生理機構は、長らく三つの亜領域を中心に議論されてきた。もう一つの亜領域である海馬 CA2 野は他の領域と比べて小さく測定上のアクセスが難しいことや、領域としての意義も不明であったため、積極的な研究対象とはならなかった。

CA2 野は Lorente de Nó が 70 年前に定義した亜領域だが、現在では CA2 特有の分子発現に基づいた領域の再定義が提唱されている (Lein, Fred, 2005; Kohara, Tonegawa, 2013; Dudek, Farris, 2016)。しかし、CA2 特有分子の発現はまばらであり、ひとつひとつの細胞の発現までを注視した知見はそう多くない (Kohara, Tonegawa, 2013; Matsumoto, Ikegaya, 2017, Leory, Seigelbaum, 2017)。

近年、社会記憶に関わるといった独自の機能が発見され、それを火蓋として内在回路の解析が進まないまま、生理機能の研究が先行していた。特に、海馬の記憶固定に重要とされるリップル波という脳波が CA2 野を発生源とする報告や、CA2 神経細胞の形態的特徴に基づく推察から、CA2 野は領域内部で互いに結合しあう「再帰回路」を形成しているかもしれないと予想されていた。特に、錐体細胞が互いに結合しあう興奮性再帰回路が CA2 野に存在するののかについては物議を醸している。

再帰回路は海馬においては珍しく、海馬亜領域の中で CA3 野にのみ存在が報告されている (MacVicar & Dudek, 1980; Miles & Wong, 1986, Guzman, Jonas, 2016)。CA3 再帰回路は学習や記憶の際に CA3 が担う機能に重要であると考えられている (Nakazawa, Tonegawa, 2004; Treves & Rolls, 1994)。現状、再帰回路と機能の因果性を直接示した研究はないが、再帰回路のモデルによって細胞集団のアトラクターや安定的な活動表象を再現する試みは多い。回路モデルの再現は前提となる再帰回路のシナプス結合確率やシナプス強度のパラメーターに大きく影響されるため、再帰回路のパラメーターを信頼できる手法で測定する必要がある。しかし、海馬で興奮性シナプスをひとつひとつの細胞レベルで突き詰めた知見は少ない (Miles & Wong, 1986; Deuchars, Thomson, 1996; Guzman, Jonas, 2016)。これは CA2 でも同様である (Mercer, Thomson, 2012a)。CA2 野に再帰性回路があることを示唆する知見はいくつか存在する。第一に、CA2 の錐体細胞の樹状突起構造は密であり、CA1 よりも CA3 の細胞形態と似ている (Lu, Moser, 2015; Dudek, Farris, 2016)。第二に、CA2 野は Sharp-wave ripple という集合的な脳波の起点となる (Oliva, Berényi, 2016)。

2. 研究の目的

海馬 CA2 野にその領域内部で互いに結合しあう「再帰回路」の存在を実験的に示すことである。また、その再帰回路シナプスの特徴が別の亜領域である CA3 野と異なるのであれば、独自の機能を考察する。

3. 研究の方法

一つ一つのシナプスが及ぼす影響は発火に満たない微弱な電気変動のため、これらをとらえる方法は難しい。こうした発火閾値下シナプス活動を確実に測定し、神経回路構造を調べる唯一の方法として多重パッチクランプ記録法を選択した。多重パッチクランプ法は同時に測定する神経細胞数が増えるほど、高い時間分解能を保ったままで、より効率的かつ大規模な神経回路測定が可能となる。そこで国内初となる 6 細胞同時パッチクランプ記録を実現した。

4. 研究成果

CA2-CA2 興奮性シナプス結合

マウス海馬 *in vitro* スライス標本の CA2 の錐体細胞から 2-4 細胞同時ホールセル記録を行い、再帰シナプス結合を測定した。記録した細胞内部には biocytin を充填し、記録後の再構築により記録細胞の位置を同定した。CA2 領域は STEP 抗体および RGS-14 抗体で免疫染色により特定した。シナプス結合は電流固定下で各細胞にそれぞれ 20 Hz で 4 回の活動電位を与え、他の細胞の応答を 50 回の試行より同定した。502 ペアを記録し、うち 7 例で方向性の興奮性の化学シナプス結合を測定した (1.4%)。相互のシナプス結合は観測されなかった。また、各細胞に対して 500 ms の矩形波を -100-260 pA 注入したが、502 例中に電気シナプス結合はみられなかった。Fast-spiking を示す細胞は除外した。CA2-CA2 の Unitary EPSP は 0.43 ± 0.09 mV (Failure: $45 \pm 25\%$) で測定された ($n = 5$)。7 結合のうち 3 ペアで short-term depression がみられた。

CA3-CA3 興奮性シナプス結合

海馬 CA3 錐体細胞でも同様の記録を行った。108 ペアを記録し、うち 3 例で化学シナプス結合を測定した (2.8%)。CA3-CA3 の Unitary EPSP は 0.75 ± 0.54 mV (Failure $45 \pm 22\%$) だった ($n = 3$)。CA2 と CA3 での再帰結合の EPSP には有意な差がみられなかった ($P > 0.05$, Student's t-test) また、これらの結果は CA3 で測定された再帰結合の先行報告と類似した (Miles & Wong, 1986;

結合ペアの細胞体間距離

大脳皮質では結合確率は細胞の距離に依存し、細胞体の近いもの同士で結合確率が高い (Perin, Markram, 2011)。一方で、海馬 CA3 の結合確率は距離に依存しない (Guzman, Jonas, 2016)。CA2 の錐体細胞の結合確率が距離に依存するかを調べた。それぞれペアにおける細胞体間距離と結合確率に有意な関係性はみられなかった。

CA2-CA2 結合の局所性

海馬の錐体細胞は transverse 軸、radial 軸に沿って異なる性質がある (Lee, Knierim, 2015; Lu, Moser, 2015; Oliva, Berényi, 2016; Sun, Siegelbaum, 2017)。そこで、CA2 錐体細胞層におけるシナプス結合ペアの細胞体の位置関係を解析した。まず、シナプス結合ペアの方向性を調べた。結合ペアは CA3 方向に有意に投射を送っていた ($V = 2.05, P = 0.02, V\text{-test}$)。次に、結合している細胞ペアの局所性を調べた。結合したペアの細胞体の中点をとると、transverse 軸、radial 軸それぞれで局在がみられた。Transverse 軸にみると、結合ペアが存在するのは歯状回からの Mossy fiber がかかる領域だった。つまり、Lorente de Nó の定義した古典的な CA2 領域には再帰結合をもつ細胞はなかった。このことから、海馬 Transverse 軸に沿った再帰回路の存在比率は CA1 と CA3 の中間領域である CA2 の領域内部で分断されているものと考えられる。CA2 内の古定義と新定義の二つの領域の違いに着目した研究は少ないが、古典的な CA2 領域にのみ calbindin が発現している (Shinohara, Hirase, 2012) ことや、今回明らかにした再帰回路の存在などからわかるように、CA2 の研究ではこの二つの領域の違いを調べる必要がありそうだ。Radial 軸でみると、結合ペアは浅層に偏って存在した。

マウス海馬神経細胞からの *in vivo* パッチクランプ記録

麻酔下のマウスの背側海馬 CA2 野神経細胞からパッチクランプ記録をおこなった。63 匹のマウスから記録を試み、44 匹のマウスより 54 の神経細胞から whole-cell 記録をおこなった。

記録後には、記録した神経細胞を再構築し、位置と形態を確認した。確認のために用いた手法は次のとおりである。予め電極内液にはバイオサイチン (ビオチン化したりジン) を入れておき、記録中に、細胞内にバイオサイチンを受動拡散させた。記録後、電極は緩徐に引き抜き、マウスを灌流固定した後、一日の後固定を経て、切片標本作製した。その後、streptavidin-Alexa Fluor 594 conjugate を用いて、記録した神経細胞を可視化した。さらに、CA2 野のマーカートンパク質である STEP (Kohara et al., 2014) による免疫染色と NeuroTrace による神経細胞の染色をおこなった。これにより、記録した神経細胞の位置が CA2 野であるか否かを判定した。記録した神経細胞の位置が CA1 野か CA3 野かは、錐体細胞層のうち STEP により染色された領域をもとに判定した。また、海馬支脚と CA1 野の境界は、CA1 野の密な錐体細胞層が終わる部分とした。歯状回は顆粒細胞層を含む領域として同定した。

記録した 54 の神経細胞のうち、53 の神経細胞の再構築に成功した (98.1%)。内訳は、CA2 野の錐体細胞が 15、CA2 野のインターニューロン (抑制性神経細胞) が 2、CA1 野の錐体細胞が 28、CA1 野のインターニューロンが 3、部位が同定できなかった神経細胞が 5 であった。電気生理学の実験結果の質を担保するため、データの採用基準を満たした 12 の CA2 野錐体細胞と 22 の CA1 野錐体細胞の測定結果を解析した。

CA2 野錐体細胞と CA1 野錐体細胞の膜固有特性および発火特性

電流固定下で膜電位の記録をおこなった。以下の数値データは、CA2 野錐体細胞、CA1 野錐体細胞の順に平均値±標準誤差 (SEM) の形式で記載する。また、例数は CA2 野錐体細胞が 12、CA1 野錐体細胞が 22 である。用いた検定は全て、Student's t-test である。平均静止膜電位はそれぞれ、 -66.1 ± 0.8 mV、 -68.1 ± 1.1 mV であった ($P = 0.23, t_{32} = 1.23$)。自発発火率は、 0.81 ± 0.35 Hz、 1.07 ± 0.43 Hz ($P = 0.69, t_{32} = 0.40$)。膜抵抗は、 71.7 ± 16.8 M Ω 、 77.8 ± 9.8 M Ω であった ($P = 0.75, t_{32} = 0.32$)。どのパラメーターも CA2 野錐体細胞と CA1 野錐体細胞との間に有意な差は認められなかった。

CA2 野錐体細胞の膜電位の特徴的な振動 — 3-Hz 振動の発見

膜電位の観察の結果、一部の CA2 野錐体細胞の閾値下膜電位は、周期的に振動していることを発見した。個々の神経細胞の膜電位の振動を特徴づけるために、記録時間全体における膜電位振動の自己相関関数を求めた。一部の CA2 野錐体細胞の自己相関関数は周期的にピークを持ち、特に、0.25-0.5 秒 (周波数としては 2-4 Hz に対応する) においてピークを持っていた。一方、他の錐体細胞は顕著な膜電位振動を示さなかった。

統計学的に、このような 3 Hz の閾値下膜電位の振動 (以下、「3-Hz 振動」) を評価するために、自己相関関数の周期的なピークをチャンスレベルと比較した。ある CA2 野錐体細胞の膜電位に関して、元の自己相関関数の 0.25-0.5 秒におけるピークがチャンスレベルを超えていれば、その錐体細胞は「3-Hz ニューロン」であると定義した。

この定義により分類した結果、12 の CA2 野錐体細胞のうち 7 つ (58.3%) が 3-Hz ニューロンであった。一方、22 の CA1 野錐体細胞のうち、4 つ (18.2%) が 3-Hz ニューロンであった。

CA2 野の 3-Hz ニューロンの比率は、CA1 野のそれよりも有意に高かった (odds ratio = 6.30, $P = 0.026$, Fisher's exact test)。

CA2 野と CA1 野の 3-Hz ニューロンの閾値下膜電位の平均周波数は、それぞれ 3.1 ± 0.7 Hz と 3.1 ± 0.2 Hz であり、両者に有意な差は認められなかった ($P = 0.96$, $t_9 = 0.05$, Student's t-test)。以降は、CA2 野の 3-Hz ニューロンに注目して、解析を進めた。

CA2 野の 3-Hz ニューロンの膜固有特性および発火特性

CA2 野の 3-Hz ニューロンと非 3-Hz ニューロンについて、膜固有特性および発火特性を比較した。以下の数値データは、3-Hz ニューロンと非 3-Hz ニューロンの順に、平均値 \pm 標準偏差の形式で記載する。また、例数は 3-Hz ニューロンが 7、非 3-Hz ニューロンが 5 である。用いた検定は全て、Student's t-test である。

平均静止膜電位は、 -67.4 ± 3.0 mV、 -64.3 ± 0.8 mV であった ($P = 0.069$, $t_{10} = 2.04$)。膜抵抗は、 69.0 ± 57.9 M Ω 、 75.5 ± 58.8 M Ω であった ($P = 0.87$, $t_{10} = 0.17$)。自発発火率は、 1.17 ± 1.44 、 0.30 ± 0.38 Hz であった ($P = 0.25$, $t_{10} = 1.20$)。

CA2 野における 3-Hz ニューロンの分布の解析

CA1 野では、CA1 野錐体細胞層の浅層と深層の錐体細胞に機能の差が見られる (Mizuseki et al., 2011; Danielson et al., 2016)。このことから、今回発見した 3-Hz ニューロンの分布も CA2 野錐体細胞層内で偏っている可能性を検証した。

3-Hz ニューロンの分布パターンを定量するために、3-Hz ニューロンの位置について、クラスター性や空間的非対称性を検討した。

まず、クラスター性を評価するために、CA2 野錐体細胞層を理想的な長方形として線形的に規格化し、正方形内における個々の神経細胞の相対座標 (0 から 1 まで) を求めた。幾何学的エネルギー (geometric energy) を求めた (Makino et al., 2016)。幾何学的エネルギーが大きいほど、クラスター性が高いことを示す。実データから 1,716 の疑似データを作製し、それぞれの疑似データの幾何学的エネルギーを求め、ヒストグラムとして表した。そして、実データの幾何学的エネルギーを求め、このヒストグラムと比較することで、チャンスレベルに比べて有意に高い幾何学的エネルギーを持つかを調べた。結果、実データの幾何学的エネルギーとチャンスレベルとの間に有意な差は認められなかった。

次に、空間的非対称性を評価するために、歪度を求めた。歪度の絶対値が大きいほど、分布が偏っていることを示す。CA3 野から CA1 野に向かう軸 (水平軸) と浅層から深層に向かう軸 (垂直軸) について歪度を計算し、幾何学的エネルギーの解析と同様に、チャンスレベルと実データとを比較した。水平軸方向の歪度はチャンスレベルと有意な差は認められなかった ($P = 0.39$)。また、垂直軸方向の歪度も、チャンスレベルと有意な差は認められなかった ($P = 0.37$)。

CA1 野では、4 つの 3-Hz ニューロンのうち、2 つが CA1 野錐体細胞の浅層に、残りの 2 つが深層に存在していた。

これらのことから、CA2 野錐体細胞層においても、CA1 野錐体細胞層においても、3-Hz ニューロンの分布に空間的な偏りは無いことが示された。

3-Hz 振動イベントの特徴

ウェーブレット変換を用いて、膜電位の 3-Hz 振動の時間的特徴を解析した。スペクトルにおいて、疑似カラーで表示したウェーブレット係数の絶対値 (以下、「ウェーブレット強度」とする) は約 3 Hz において顕著であった。しかし、ウェーブレット強度は、必ずしも常に 3 Hz で最大ではなかった。すなわち、3-Hz 振動は時間的に分断されていた。このことから、ウェーブレット強度をチャンスレベルと比較することで、統計学的に、3-Hz 振動が起きている時間帯を検出し、「3-Hz 振動イベント」と定義した。7 つの 3-Hz ニューロンから、3-Hz 振動イベントの発生頻度と持続時間を算出した。3-Hz 振動イベントの発生頻度は、一分あたり 8.8 ± 3.3 回であり、ひとつのイベントの持続時間は 5.9 ± 11.5 秒であった。

3-Hz 振動と発火との関係

7 つの 3-Hz ニューロンの膜電位をもとに、3-Hz 振動イベント中、および 3-Hz 振動イベント外での発火率を計算した。前者は、 1.21 ± 1.44 Hz であり、後者は、 1.20 ± 1.43 Hz であった。両者に有意な差は認められなかった ($P = 0.97$, $t_6 = 0.04$, paired t-test)。

3-Hz 振動イベント中の、3-Hz 振動に対する発火の位相は 352° であった。3-Hz 振動イベントにおいて、発火は 3-Hz 振動のピーク (0°) に有意に集まっていることが示唆された ($P < 0.0001$, $V_{1,090} = 34.1$, V-test versus 0°)。

覚醒マウスにおける 3-Hz 振動

ここまでは麻酔下のマウスを用いて検討を重ねてきたが、次に頭部固定下の覚醒マウスを用いて、同様の検討をおこなった。27 匹の覚醒マウスから記録を試み、ひとつの CA2 野神経細胞から閾値下膜電位の記録をおこなうことに成功した。

麻酔下での記録と同様に、3-Hz 振動イベントを定義すると、覚醒下での記録においても 3-Hz 振動イベントは断続的に発生していた。しかし、麻酔下における 3-Hz 振動ほどの安定性は無く、

3-Hz ニューロンとは定義できなかった。

CA2 野錐体細胞の 3-Hz 振動と CA1 野の局所場電位との関係

3-Hz 振動と海馬内の局所ネットワークとの関係を検討するため、CA2 野神経細胞の膜電位と、CA1 野の局所場電位の同時記録を試み、二匹のマウスから一細胞ずつ成功した。他の研究グループからの報告と同様に、CA1 野でのリップル波の発生中には、CA2 野神経細胞は平均して一過性の過分極を示した。観察された全てのリップル波のうち、88.2%が CA2 野神経細胞の過分極を伴っていた。CA2 野神経細胞の 3-Hz 振動イベント中であっても、3-Hz 振動イベント外であってもリップル波は発生しており、全 43 のリップル波のうち 35%は 3-Hz イベント中に発生していた ($P = 6.72 \times 10^{-2}$, $Z = 1.83$, Z-test for a proportion versus 50%)。3-Hz 振動イベント中における、リップル波のピークの位相を算出した。膜電位の 3-Hz 振動に対するリップル波の位相は $170^\circ \pm 62^\circ$ であり、3-Hz 振動のトラフ (180°) に有意に集まっていた ($P < 0.005$, $V_{15} = 2.98$, V-test versus 180°)。

次に、CA1 野の局所場電位から統計学的に 3-Hz 振動の成分を抽出した。以降では、CA1 野の局所場電位の 3-Hz 振動成分を、LFP-3-Hz 振動と呼ぶ。LFP-3-Hz 振動に対する CA2 野神経細胞の発火の位相を算出した。平均位相は $151^\circ \pm 102^\circ$ であり、LFP-3-Hz 振動のトラフに有意に集まっていた ($P < 0.0001$, $V_{352} = 4.83$, V-test versus 180°)。

一方、CA2 野神経細胞の 3-Hz 振動と、CA1 野の局所場電位との相関を、(i) ウェーブレット変換、(ii) ウェーブレット・コヒーレンス、(iii) ウェーブレット強度の相関係数、(iv) コヒーレンス、(v) 高速フーリエ変換により検討した。

ウェーブレット・コヒーレンスによる解析では、時間が進むにつれて、ウェーブレット強度により求まる位相差が不安定であることが示された。また、コヒーレンスによる解析では、二細胞について 0.1 を下回っていた。さらに、高速フーリエ変換による解析では、二細胞共に、3 Hz においてピークは重ならなかった。

これらのことから、CA2 野神経細胞の 3-Hz 振動と、CA1 野の局所場電位とは相関が無いことが示された。

加えて、CA2 野神経細胞の膜電位振動が CA1 野の局所場電位のガンマ波成分 ($30 \sim 90$ Hz) と関連があるかを検討した。しかし、両者に有意な相関は認められなかった。

以上のことから、本研究で発見された CA2 野神経細胞の 3-Hz 振動は、海馬全体のネットワークを反映しているのではないことが示唆された。寧ろ 3-Hz 振動は、CA2 野内で発生する局所的な神経活動、または、海馬外から CA2 野に投射する神経核の活動を反映している可能性が考えられる。

CA2 野錐体細胞の 3-Hz 振動と膜固有特性との関係

最後に、急性海馬切片標本を用い、in vitro パッチクランプ記録により、CA2 野の 3-Hz 振動と膜固有特性との関連を検討した。1 μM のテトロドトキシン (電位依存性 Na^+ チャンネル阻害薬) を細胞外液に灌流し、発火を抑制した状態で、CA2 野および CA1 野神経細胞から膜電位の記録をおこなった。続いて、1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 40 Hz の入力振動数 (input frequency) を持つ正弦波電流を神経細胞に注入し、特定の入力振動数に対して、膜電位が共振するか否かを検討した。

ここで、神経細胞の生物物理に触れ、神経細胞の細胞膜で見られる共振の性質と、インピーダンスの算出方法を述べる。細胞膜を構成するリン脂質二重膜は、親水基によって疎水基を挟み込む構造であり、生物物理学的には、二枚の極板で絶縁体を挟んだコンデンサーと捉えることができる。また、電荷を帯びたイオンを通すイオンチャンネルは生物物理学的に抵抗と捉えることができる。すなわち、多数のイオンチャンネルを発現している神経細胞の細胞膜は、電気回路として、抵抗とコンデンサーを並列につなげた RC 並列回路とみなすことができる。そして、このチャンネル (抵抗) とリン脂質二重膜 (コンデンサー) が細胞膜の膜固有特性を決めている。物理学的には、この RC 並列回路に対して、外部から振動数 ω の交流電流をかけると、交流電流に遅れて電位は変化する。これらをもとに、この RC 並列回路の合成インピーダンスを求めることができる。神経細胞の細胞膜が単純な RC 並列回路であれば、R と C は記録時間中不変であると考えられる。なぜなら、R はイオンチャンネルの密度やイオン透過性に依存し、C はリン脂質二重膜の厚み (物理学では、極板間距離に相当する) や神経細胞の表面積に依存するためである。すなわち、通常の神経細胞では、Z の大小は ω の大小に依存する。

しかし、CA1 野錐体細胞においては、 ω の単調増加に伴って Z は単調減少せず、 ω が約 3 の時に Z は最大となることが知られている。すなわち、CA1 野錐体細胞の細胞膜は 3 Hz の交流電流に対して共振し、この性質は式だけでは説明できない。これは、CA1 錐体細胞に発現している HCN1 チャンネルの寄与と考えられている。

このような特性が CA1 野錐体細胞では見られるため、膜抵抗と膜容量から合成インピーダンスを見積もる方法は適切ではない。よって、実験的には、例えば、1 Hz の交流電流を神経細胞に注入した場合においては、高速フーリエ変換を用いて、注入電流の 1 Hz の強度と膜電位変動の 1 Hz の強度を求め、後者を前者で除することでインピーダンスを求めた。そして、インピーダンスを膜固有特性の指標とし、 ω の増加に伴って、インピーダンスが極値を持つ (共振する) かどうかを検討した。

上記の方法により、CA2 野および CA1 野錐体細胞のインピーダンスを算出した。CA2 野錐体細胞では、どの入力振動数においても、インピーダンスが極大値を取ることはなく、入力振動数の増加に伴い、インピーダンスは減少した。一方、CA1 野錐体細胞では、およそ 2-4 Hz の入力振動数において、インピーダンスが極大となった。これは、先行研究とも一致する結果である。

これらのことから、CA1 野錐体細胞に対して、CA2 野錐体細胞は、膜固有特性として、3 Hz の入力振動数に共振する性質を持たないことが示された。

結論

CA2 の再帰結合確率は CA3 と比較すると少ない。しかし、1.0% に満たない結合確率であっても海馬の活動に寄与するに十分であると報告があり、この回路は機能を語る上で十分な再帰回路を形成しているといえる。また、CA2 で発見した単シナプス結合の伝達の強さは CA3 のものと同等だった。記録した CA2 神経細胞ペアの位置を解析すると、再帰回路を持つペアは CA2 領域の一部に限局して存在していた。すなわち、CA2 領域は内部で再帰回路をもつ部分と持たない部分に分かれていた。従来再帰回路は CA3 野に豊富だが CA1 野にはないとされ、それらの回路特性の違いとともに考察がなされてきた。CA2 野の再帰回路の存在については意見が二分していた。この結果はそれらの議論に決着をつけることとなった。局所的にみれば CA2 の再帰回路は CA3 とほぼ同率で存在していた。これまでの報告によれば CA2 は CA3 と神経活動パターンが異なる。それにもかかわらず、CA2 と CA3 は再帰回路という同じ神経回路基盤を持つという今回の発見は、海馬の神経回路と神経活動パターンの関係、そして機能の創発を考える上で重要である。CA2 野は、社会性行動や攻撃行動などにも関与し、海馬の垂領域の中で特徴的である。一方、解剖学的には、CA2 野は視床下部からの投射を強く受け、CA2 野錐体細胞の細胞膜上には、オキシトシンやバソプレシンの受容体が豊富に存在する。このような、解剖学的、組織学的知見と行動学的知見の間を橋渡しする生理学的知見のひとつとして、本研究が今後の海馬の研究の土台になることを期待している。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Okamoto, K., Ikegaya, Y. Recurrent connections between CA2 pyramidal cells. *Hippocampus*, 29:305-312, 2019.

〔学会発表〕(計 2 件)

岡本和樹、池谷裕二、Reentrant excitation in hippocampal CA2 microcircuitry、第 41 回日本神経科学大会(神戸)、2018 年 7 月 27 日、2P-048

Okamoto, K., Ikegaya, Y., Hippocampal CA2-CA2 excitatory synapses, 11th FENS Forum of Neuroscience (Berlin, Germany), 9 July 2018, F18-1198

〔図書〕(計 0 件)

なし

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：なし

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：なし

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。