

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 4 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590273

研究課題名(和文) 哺乳類海馬機能の左右差を *in vivo* 生理学で検証する。研究課題名(英文) *In vivo* study of left-right differences of the rodent hippocampus

研究代表者

篠原 良章 (Shinohara, Yoshiaki)

独立行政法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・研究員

研究者番号：10425423

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000 円、(間接経費) 1,230,000 円

研究成果の概要(和文)：経験依存的な脳集団活動を左右で比較するため、ラットを単独飼育した群(ISO)と豊かな環境で飼育した群(ENR)に分け、左右海馬脳波を測定した。すると、1) ISO群に比して、ENR群では、波の振幅が大幅に上昇していた。なお、波の振幅はISO群では左右がほぼ同等であったが、ENRでは右の方が振幅が優位に大きくなっていた。2) 左右海馬の協調性を見る指標にコヒーレンスがあるが、ENR群では、帯域でコヒーレンスの上昇が見られた。つまり、ENR群では両側海馬の協調性が増大していた。3) 海馬左右シナプスの数をENRで観測すると、右側の方がシナプス数が多かった。

研究成果の概要(英文)：Though left-right asymmetry of the brain is well known among the general population, the physiological meanings remain unclear. To investigate how animal experience influence on brain asymmetry, we recorded local field potentials of rat hippocampi bilaterally from rat reared in enriched environment (ENR) and those reared in isolated condition (ISO). We found that the power of gamma oscillations tends to be greater in rats reared in ENR than those reared in an ISO. This experience-dependent gamma enhancement is consistently larger in the right hippocampus across subjects, coinciding with a lateralized increase of synaptic density in the right hippocampus. Moreover, interhemispheric coherence in ENR group is significantly elevated at the gamma frequency. These results suggest that ENR rearing sculpts the functional left-right asymmetry of hippocampal circuits by reorganization of synapses.

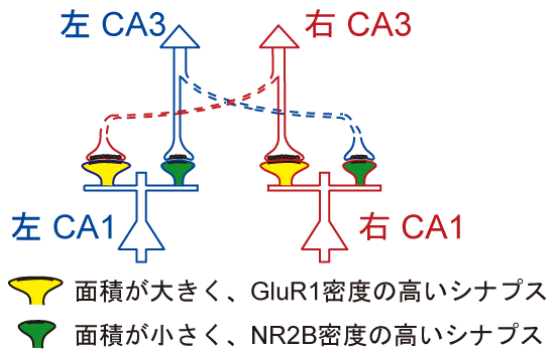
研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学、生理学一般

キーワード：海馬 左右差 脳波 シナプス 豊かな環境

1. 研究開始当初の背景

マウス・ラットの海馬シナプス (CA3-CA1 シナプス) に左右差があることは我々の以前の報告で明らかにされている (下図)。CA1 シナプスが右側にあるとき、そのシナプスの面積は大きく、AMPA 受容体のうち GluR1 が特に多い。一方、CA1 シナプスが左側にあるとき、そのシナプスは小さい (Shinohara et al., PNAS (2008))。しかし、その生理的な意味は不明であった。



2. 研究の目的

海馬シナプスの大きさ、グルタミン酸受容体の左右差があるなら、左右で海馬機能に左右差があっても不思議ではない。事実、片側の海馬で視覚情報が処理されるようなマウスを手術で作成した後に空間記憶テストを行うと、右側の海馬に視覚情報が入るマウスの方が空間記憶テストで良好な成績を示した (Shinohara et al., Hippocampus (2012))。そこで、もっと直截的に左右の海馬の機能差を知りたいと考えた。

3. 研究の方法

A) 脳の集団活動を最も簡単に測定できるのは脳波である。レム睡眠中に海馬では海馬固有の  $\theta$  波が観測されるが、それに伴って現れる  $\gamma$  波はシナプス入力を反映するので、 $\gamma$  波を左右海馬 CA1 領域で比較することで脳活動の左右差を見る事にした。この時、経験依存的な脳波の変化を見るため、ラットを単独で隔離飼育した群 (isolated: ISO) と広いケージに遊具などを入れ集団飼育した群 (enriched: ENR) とに分けて、この両者を比較することにした。

B) 実験 A) が当研究の最終目標であったが、CA3-CA1 の投射のうち、何パーセントが同側から来ており、何パーセントが反対側から来ているかを調べておくのは海馬左右差の生理的な意義を調べる上で有益であろうと考えた。そこで、CA1 領域に逆行性のトレーサーを電気生理を用いてインジェクションし、染まってくる CA3 錐体細胞を数えることで、同側：反対側の比率を数えることにし

た。

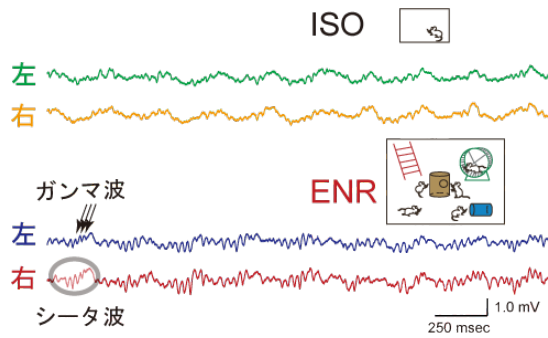
4. 研究成果

A) 電気生理の研究

ラットは ISO, ENR 飼育を離乳後 3 - 4 週間経ったものを使用した。

両側の海馬  $\gamma$  波をシリコンプローブを用いて記録、比較したところ、

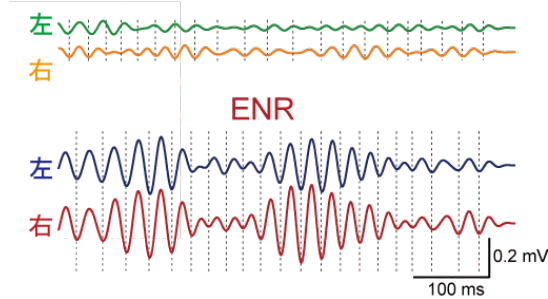
1) まず、ISO 群に比して、ENR 群では  $\gamma$  波の振幅自体が大幅に上昇していた (下図)。



2)  $\gamma$  波の振幅は ISO 群では左右がほぼ同等であったが、ENR では右の方が振幅が優位に大きくなっていた。

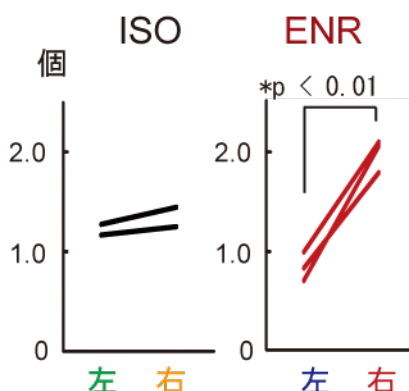
3) 左右海馬の協調性を見る指標にコヒーレンスがあるが、ENR 群では  $\gamma$  帯域でコヒーレンスの上昇が見られた。つまり、ENR 群では両側海馬の協調性が増大する (下図)。

ガンマ波比較 ISO



4) 左右に差が生じた理由を調べるため、海馬左右シナプスの数を電子顕微鏡を用いて ENR で観測すると、右側の方がシナプス数が多かった (下図)。

立方ミクロン当たりのシナプス



以上の結果を Nature Communications 誌に発表した。

## B) トレーサー実験

1) 逆行性トレーサーを用いて、CA3-CA1の投射の同側：反対側の比率を調べると、頂上樹状突起では同側：反対側が約2：1であった。なお、基底樹状突起側ではこの比は逆転しており、反対側からの投射の方が多かった。

2) さらに、最近ではCA3とCA1の間に挟まれたCA2領域が注目を浴びている。CA2領域はCA3領域と同様の大きい錐体細胞体を持ち、歯状回からの投射を受けないことになっている。しかし、CA2特異的な分子マーカーで染色したところ、この定義が必ずしもCA2の実情にそぐわないことが分かった。そこで、分子マーカーでCA2領域を再定義した後、CA2-CA1投射も同様の手法で同側：反対側比を測定したところ、この投射では同側性の投射が反対側よりかなり多く、さらにCA2の軸索は基底樹状突起側に投射することが分かった。

以上の結果を European Journal of Neuroscience 誌に発表した。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

1. “Experience enhances gamma oscillations and formation of interhemispheric asymmetry in the hippocampus.”

†Shinohara Y, Hosoya A, †Hirase H  
*Nat. Commun.* 4: 1652 (2013)

doi: 10.1038/ncomms2658

(査読あり)

2. “Regulation of synaptic currents by mGluR2 at reciprocal synapses in the mouse accessory olfactory bulb.”

Taniguchi M, Yokoi M, Shinohara Y, Okutani F, Murata Y, Nakanishi S and Kaba H

*Eur J Neurosci.* 37(3), 351-358 (2013)

doi: 10.1111/ejn.12059

(査読あり)

3. “Quantification of postsynaptic density proteins: glutamate receptor subunits and scaffolding proteins.”

†Shinohara Y

*Hippocampus.* 22(5), 942-953 (2012)

doi: 10.1002/hipo.20950

(査読あり)

4. “Hippocampal CA3 and CA2 have distinct bilateral innervation patterns to CA1 in rodents.”

Shinohara Y, Hosoya A, Yahagi K, Ferencsik AS, Yaguchi K, Sik A, Itakura M, Takahashi M, Hirase H.

*Eur J Neurosci.* 35(5), 702-710 (2012)

doi: 10.1111/j.1460-9568.2012.07993.x

(査読あり)

5. “Right-hemispheric dominance of spatial memory in split-brain mice.”

Shinohara Y, Hosoya A, Yamasaki N, Ahmed H, Hattori S, Eguchi M, Yamaguchi S, Miyakawa T, Hirase H, Shigemoto R.  
*Hippocampus.* 22(2), 117-121. (2012)

doi: 10.1002/hipo.20886

(査読あり)

[学会発表](計 8 件)

1. “Ultrastructural investigation of lateralized experience-dependent synaptic plasticity in rat hippocampal CA1 stratum radiatum”

Shinohara Y, Hosoya, Hirase H  
Euroglia (2013/7/5)

2. “Lateralized enhancement of experience-induced hippocampal gamma oscillations”

Shinohara Y, Hosoya A, Hirase H.  
日本神経科学会 (2013/6/23)

3. “Left-right asymmetry of the rodent hippocampus”

Shinohara Y, Hosoya A, Hirase H.  
Ducog meeting (2013/5/18)

4. “Anatomical characterization of projections to hippocampal CA1 from CA3 and CA2”

Shinohara Y, Hosoya A, Hirase H.  
Society for Neuroscience (2012/10/21)

5. “Anatomical characterization of projections to hippocampal CA1 from CA3 and CA2.”

Shinohara Y, Hosoya A, Itakura M, Takahashi M, and Hirase H  
日本神経科学会 (2012/9/19)

6. “Enriched environment enhances the hippocampal left-right asymmetry.”

Shinohara Y, Hosoya A, Hirase H.  
Society for Neuroscience (2011/11/16)

7. “miRNA profiling of bilateral rat hippocampal CA3 by deep sequencing”

Hirase H, Shinohara Y, Yahagi K, Kawano M, Nishiyori H, Kawazu C. Suzuki N, Manabe R  
Society for Neuroscience (2011/11/14)

8. "Enriched environment enhances the hippocampal left-right asymmetry."  
Shinohara Y, Hosoya A, Hirase H.  
日本神経科学会 (2011/9/15)

〔図書〕(計 2件)

1. "Imaging of Astrocytic Activity in Living Rodents"  
Takata N, Shinohara Y, Ohkura M, Mishima T, Nakai J, Hirase H  
"Optical Imaging of Cortical Dynamics"  
(2014)

2. 「 $\gamma$ 波の発達と環境」  
篠原 良章, 平瀬 肇  
Clinical Neuroscience 2013年 31巻 12号 掲載

〔その他〕  
ホームページ等

<http://ngc.brain.riken.jp/shinohara/>

## 6. 研究組織

(1)研究代表者  
篠原 良章 (Yoshiaki Shinohara)  
独立行政法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・研究員  
研究者番号：10425423