

# アシム クマール ベパリ氏の在学期間短縮に関わる学位論文審査の 要旨

## 論文題目

Mapping neuronal activity in the mouse brain by analyzing  
immediate early gene expression

(最初期遺伝子の発現解析を用いたマウス脳における神経活動マッピング)

正常および疾患下における脳の働きを理解するためには、神経細胞の活動を正確に把握することが必要である。さらに、脳では領域ごとに異なった機能分担があり、構成する神経細胞の位置と回路に依存した情報処理が行われるため、活性化している神経細胞を高い空間分解能をもってマッピングすることが重要である。申請者は、神経細胞の活性化に伴って発現が上昇する活動依存遺伝子 (activity dependent gene) に着目し、このうち最も初期に発現が誘導される最初期遺伝子 (immediate early gene, IEG) の発現パターンを解析することで、脳内における神経活動を可視化することを試みた。1つ目の実験系では、嗅覚系をモデルケースとして選んだ。野生型マウスに匂い刺激を与え、嗅球をはじめとする嗅覚系における IEG 群の発現を *in situ hybridization* 法で調べたところ、10種の IEG の一過的な発現誘導を確認した。嗅覚を喪失した *Cyclic nucleotide-gated channel subunit A2 (CNGA2)* 欠損マウスを用いた実験で、雌マウスに対する性行動の個体差と脳内の IEG 発現の個体差との間に高い相関があることを明らかにした。また、捕食者の匂い刺激に対しては嗅球において IEG の顕著な誘導がおり、主嗅覚系に *CNGA2* 非依存経路が存在することを示唆した。2つ目の実験系では、神経活動と IEG 誘導の機能的相関を明らかにするため、チャネルロドプシンによる光遺伝学的手法を用い、光刺激によって強制的に活性化した神経細胞での IEG の誘導を調べた。線条体の中型有棘神経細胞 (medium spiny neuron, MSN) に変異型チャネルロドプシン (ChR2 (C128S)-YFP) を発現するトランスジェニックマウスの脳に光ファイバーを挿入し、片側の線条体に光刺激を与えたところ、IEG の一つである *Npas4* が、光刺激を与えた側の線条体で、迅速に著しく誘導されることを見出した。しかしながら、他の主要な IEG (*c-fos*, *Egr1* 等) の誘導は見られず、神経細胞や神経活動の種類によって活性化される IEG のプロファイルに違いがあることを示した。以上の結果から、これら IEG プローブセットを用いた発現解析は、脳内の神経活動を可視化する非常に有用な方法であることが示された。

審査では、嗅球の立体性に即した解析かどうか、定量的解析法の詳細について、嗅球の神経細胞の活性化は嗅覚の情報処理システムに合致するか、IEG の多様性とそれが担う神経活動との関連、使用したチャネルロドプシンの性状、光刺激と神経活動の時間差に関する説明、実験の各設定の妥当性・一般性、調べた活動依存因子の数とその素性について、*Npas4* についての詳細、覚醒した状態での IEG 発現のバックグラウンドの低さの説明、神経活動の活性化と IEG 発現との整合性、多様な IEG 発現は単一のニューロン内で起こるのか、IEG の発現誘導は刺激の強度に依存するか、*CNGA2* 変異体の一部で行動異常を呈さない理由など、多種多様な質問が出されたが、申請者からは概ね適切な回答と考察がなされた。

本研究は、脳内の神経活動を高い空間分解能をもって解析する手法を確立し、脳の様々な高次機能、活動を細胞レベル、および神経回路レベルで解析することを可能にしたという点で、学位論文にふさわしい意義ある研究と評価された。

審査委員長 脳発生学担当教授

島村 健児