



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Anatomical Study on Neuronal Circuitry in Medial Prefrontal Cortex and Development of a New Device for Optical Study [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	CHANG, Ching Pu
Description	配架番号 : 2730
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15109号
Issue Date	2022-06-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/86903
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	CHANG_Ching_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 Chang Ching-Pu

主査 教授 神 谷 温 之
審査担当者 副査 教授 藤 山 文 乃
副査 教授 森 本 裕 二

学 位 論 文 題 名

Anatomical Study on Neuronal Circuitry in Medial Prefrontal Cortex
and Development of a New Device for Optical Study

（内側前頭前野の神経回路に関する解剖学的研究および光学的研究のための新規デバイス開発）

内側前頭前野は脳高次機能のトップダウン制御を行う領域であり、特に扁桃体との間に形成された神経回路は情動学習において重要な役割を担っている。これまでに、この回路は双方向性であること、また内側前頭前野の神経活動は抑制性介在細胞により複雑な制御を受ける可能性が示唆されているが、その解剖学的および生理学的な基盤は十分に示されていない。本研究では内側前頭前野—扁桃体回路の解剖学的研究を行うとともに、内側前頭前野など脳の深部における神経活動を解析するための新規デバイス開発を行った。第一章では解剖学的手法によりマウスの内側前頭前野の二つの亜領域（前および下辺縁皮質）と各層において、扁桃体との出入力関係を明らかにし、主要な抑制性介在細胞がソマトスタチン陽性細胞であること、またこれらの細胞には扁桃体からの投射線維により興奮性シナプスが形成されていることを示した。さらに既存の二光子顕微鏡システムを用いた *in vivo* カルシウムイメージングを行った。その結果内側前頭前野のソマトスタチン陽性細胞の神経活動は記録できるものの、扁桃体入力に対する応答を描出するのは困難であることが判明し、新たなデバイス開発の必要性が示唆された。第二章では第一章で判明した課題解決を目指し、一回の走査で脳深部領域からのボリューメイメージングが可能な Bessel ビーム発生装置の開発を行った。この装置を用いた Bessel スキャンにより内側前頭前野の神経細胞からの *in vivo* カルシウムイメージングには成功したが、扁桃体入力に対する応答描出のためには、さらなる改良が必要であることなど新たな課題も明らかになった。

審査にあたり、まず副査の藤山教授から Bessel スキャン画像では神経細胞の樹状突起や軸索などの構造が可視化されないといった空間解像度の低下についての指摘と、この低下を改善するための方策について質問があった。これに対し申請者は、現時点ではまだ推論の域を出ないと前置きした上で、Bessel ビームのズーム効果により深部の構造体ほど大きく描出されるため、浅い部分の樹状突起や軸索などの小さい構造物の可視化が妨げられているとした。また、蛍光タンパク質の発現細胞の数を減らすと、樹状突起や軸索などの構造が明瞭に可視化されると回答した。副

査の森本教授からは、*in vivo* イメージングで使用した麻酔薬の種類と、その麻酔薬によりソマトスタチン陽性細胞の活動パターンが変化する可能性について質問があった。これに対し申請者は動物の麻酔には吸入麻酔薬であるイソフルランを用いたこと、また、弱い麻酔であるとはいえずソマトスタチン陽性細胞の自発活動が減少した可能性は否定できないとした。さらに、この問題を回避するため、今後は覚醒マウスを用いた *in vivo* イメージングを計画していると回答した。最後に主査の神谷教授から、前辺縁皮質の第二層においてソマトスタチン陽性細胞が主要な細胞であることの生理的意義について見解を求められた。これに対し申請者はソマトスタチン陽性細胞の神経結合様式に由来する二つの作用、すなわち、出力細胞である錐体細胞を抑制するとともに、他の抑制性介在細胞を抑制し錐体細胞を興奮させる脱抑制作用を説明した。従ってこの細胞が扁桃体からの入力に集中する第二層に豊富に存在することは、状況に応じた局所回路制御を行うために重要であると回答した。さらに、学位論文で行った二つの研究の関連性について説明を求められた。これに対し申請者は、内側前頭前皮質と扁桃体が構成する神経回路に関する包括的な理解を目指すために、まず第一章で解剖学および光学的手法による解析を行ったが、内側前頭前皮質の光学的研究を進めるためには解決すべき技術的な課題があったとした。課題の背景として、内側前頭前野が脳の深部にあること、さらに各層が体性感覚野のように脳表に対して平行に位置しておらず、z 方向へのスキャン深度を深くする必要があり、既存の二光子顕微鏡システムを用いた撮影が困難であることを挙げ、第二章では被写界深度を増加させ、一回の走査でボリュームイメージングを可能にする新規デバイス開発を行ったと回答した。

この論文はマウス内側前頭前野において扁桃体からの入力に集中する特定の層において主要な抑制性介在細胞を同定し、扁桃体からの投射線維による興奮性シナプス形成を示した。さらに扁桃体入力に応じた神経活動の *in vivo* イメージングに応用できる可能性を持った新規光学デバイスの開発を行った。これら一連の研究は内側前頭前野—扁桃体回路の機能解明に寄与するだけでなく、幅広い領域のイメージング技術改良に貢献するものと考えられる。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。