

令和元年8月28日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15568

研究課題名(和文) トップダウン入力による大脳皮質記憶固定化機序

研究課題名(英文) Neural mechanisms underlying perceptual memory consolidation in the cerebral cortex

研究代表者

平井 大地 (Hirai, Daichi)

国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・訪問研究員

研究者番号：40746939

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：睡眠時の脳は、知覚体験を記憶として定着(固定化)させる。最近、我々はノンレム睡眠時のトップダウン回路が触知覚の記憶固定化に関与することを突き止めた(Miyamoto et al., Science, 2016)。本研究では、先行研究を基盤とし、触知覚記憶の固定化に関わる皮質トップダウン投射活動、この受け手である皮質5層神経細胞の樹状突起活動、スパイン活動を操作・記録し、これとマウスの記憶行動との因果関係を明らかにした。これにより「ノンレム睡眠時のトップダウン入力が錐体細胞の樹状突起スパイクを発生させ、スパインの形成や刈込が行われて、最終的に知覚記憶が固定化される」という結論を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、光遺伝学的手法を用いることで、細胞腫や投射経路を選択的に操作する事が可能となった。この手法を用いて、記憶の固定化や想起に関わる領野間投射に着目した研究が報告されはじめている。しかし、“シナプス前細胞のこういった神経活動が必要で、これを受け取るシナプス後細胞がどのような活動を起こすことが記憶の固定化に必須なのか”という本質的な疑問は、未解明であった。本研究では触知覚に関わるトップダウン回路を記憶の固定化の皮質間モデルとして、この問いの解明を目指した。本研究により皮質内における記憶の固定化機序の一端を解明できたことで、ヒトにおける記憶障害の病理の解明と治療法の開発への寄与が期待される。

研究成果の概要(英文)：Sleep plays a vital role in memory consolidation. Recently, we found that top-down projection from the secondary motor cortex (M2) neurons to the primary somatosensory cortex (S1) initiated dendritic activity and persistent firing of S1 layer 5 (L5) neurons, and that the top-down cortical information flow during NREM sleep is required for perceptual memory consolidation (Miyamoto et al., Science, 2016). Therefore, we hypothesized that the activation of such top-down circuits during sleep induces dendritic activities and subsequent growth of dendritic spines in individual pyramidal neurons. To test this hypothesis, we measured Ca²⁺ activity during sleep in single dendrites of L5 neurons. Furthermore, to examine the effects of top-down control on dendritic activation, subsequent spine growth, and perceptual memory-based behavior, we inactivated the top-down inputs and observed the resulting perception inaccuracies, dendritic activity, and spine dynamics.

研究分野：神経生理学

キーワード：大脳皮質 樹状突起 2光子励起イメージング 睡眠 記憶 シナプス可塑性 トップダウン入力

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

1. 研究開始当初の背景

記憶は、高次認知機能の基盤をなす重要な機能である。記憶の固定化に関する神経機構の解明は神経科学における重要な課題の一つである。睡眠には記憶を固定化する役割があり (Maquet, 2001, Science)、その破綻は日常生活に広範な支障を及ぼすことから、近年注目が集まっている。これまでの研究から、記憶の基盤となっているのは、シナプスにおける「長期増強」というメカニズムであると考えられる。とりわけ大脳皮質においては、興奮性シナプスの大半が樹状突起のスパインという小突起構造上に形成される。スパインは記憶・学習に伴い形態が劇的に変化し、シナプス伝達効率を変化させることから、記憶を保持・固定化する細胞基盤と考えられてきた (Holtmaat et al., Nature, 2009)。

最近、我々は長年の仮説であった「トップダウン入力」が記憶の固定化に「関与する」ことを実験的に証明した (Miyamoto et al., Science 2016)。この研究では、申請者らが発見したマウスの覚醒時における触知覚に必須な回路 (Manita et al., Neuron 2015) をトップダウン回路として用いた。その結果、マウスの学習直後のノンレム睡眠時における感覚野へのトップダウン入力が、触知覚記憶の固定化に必須であることを解明した。

よって本研究では、次のステップとして、第二の核心的な問いに挑戦した。すなわち、トップダウン入力の受け手である感覚野の神経活動の詳細と、トップダウン入力との因果関係、触知覚記憶が感覚野に貯蔵されているかどうか、触知覚記憶の分子実体を明らかにすることを目指した。

2. 研究の目的

本研究では、主に、トップダウン入力の受け手である感覚野の神経細胞の樹状突起活動に着目する。皮質の5層に細胞体を位置する錐体細胞は、1層(表層)まで樹状突起を伸張させており、よってトップダウン入力の影響を最も受けやすい (Manita et al., Neuron 2015)。5層錐体細胞の樹状突起の生理的な特徴は、細胞体から遠位の樹状突起において樹状突起スパイクを発生する点である。スパイクの発生は細胞内 Ca^{2+} の上昇を引き起こし、学習に関連する神経可塑性を引き起こす)。実際、学習過程における樹状突起スパイクと樹状突起上の棘突起(スパイン)の形成や刈込との関連が報告されている。これらの結果より、5層錐体細胞の樹状突起はノンレム睡眠時にトップダウン入力を受け()、樹状突起スパイクを発生させ()、知覚学習に関連したスパインの形成や刈込、メンテナンが行われ()、最終的に知覚記憶が固定化されると考えられる。本申請ではこれを作業仮説とし、実験的に検証した。

3. 研究の方法

「ノンレム睡眠中のトップダウン入力は樹状突起スパイクを誘起するのか」を明らかにするため、2光子顕微鏡技術と遺伝子工学を組み合わせることで、学習前後のM2の軸索活動(トップダウン入力、図1左)と、その受け手であるS1樹状突起(図1右)を2光子イメージングにより可視化した。そのため、S1とM2錐体細胞にカルシウムセンサー

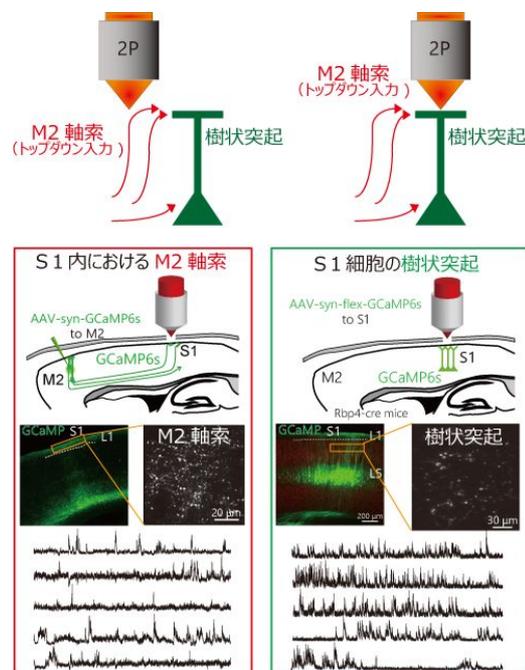


図1 M2 軸索と S1 細胞の樹状突起の活動 (Hirai et al, in preparation)

(GCaMP) をアデノ随伴ウイルス(AAV)により導入した。S1樹状突起およびM2軸索の学習直後のノンレム睡眠時における神経活動の活性化を明らかにした(図2)。樹状突起Ca²⁺活動が樹状突起スパイクであるかどうかを判別するため、先行研究と同様の薬理学的実験(Manita et al., *Neuron* 2015)を行った。トップダウン入力(図1左)と樹状突起スパイク(図1右)との因果関係を、遺伝薬理学的手法(DREADDS)を用いて明らかにした。

次に、「ノンレム睡眠中の樹状突起スパイクはスパイン形成を誘導するのか」を検証した。学習により増大・または新規に形成されたスパインは、記憶を蓄積したスパインであると考えられる(Hayashi-Takagi et al., *Nature* 2015)。そこで記憶に関わるスパインを標識し、尚且つ光操作できるプローブをマウスに導入することで、樹状突起への記憶の蓄積過程を可視化・操作した(図3)。

最後に、「睡眠中のスパイン増大は知覚記憶に関連するのか」を検証した。学習により形成・増大したスパインが知覚記憶の固定化に必須であるかどうかを調べる目的で、蛍光プローブ(AS-PaRac1)で標識したスパインを光照射により縮退させ、記憶行動を観察した。学習を終えたマウスのS1に対して、青色LEDを低頻度かつ持続的に光照射した(図4)。プローブに含まれる光感受性Rac1の活性化によって生じるスパイン縮退を観察する。翌日に記憶テストの学習成績に対する影響を評価した。

4. 研究成果

樹状突起スパイクはスパイン形成や増大に関与する事が知られており、可塑性や記憶に関連すると考えられている。そこで、トップダウン回路を基盤としたシナプス入力、錐体細胞に樹状突起スパイクを発生させ、それに続くスパイン形成や増大を誘導する、これが記憶の固定化に関わる皮質間メカニズムではないかと仮説を立てて研究を行い、下記の点を明らかにした。

- (1) ノンレム睡眠中のトップダウン入力は樹状突起スパイクを誘起する
- (2) ノンレム睡眠中の樹状突起スパイクはスパイン形成を誘導する
- (3) 睡眠中のスパイン増大は知覚記憶に関連する

以上の結果により、トップダウン入力を受けやすい5層錐体細胞の樹状突起はノンレム

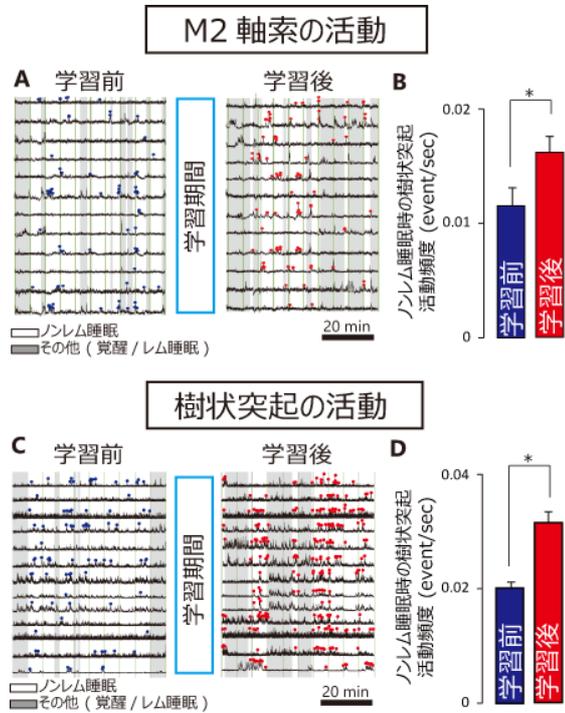


図2 M2軸索とS1細胞の樹状突起の活動は触覚体験の直後のノンレム睡眠時に増加した(Hirai et al, in preparation)

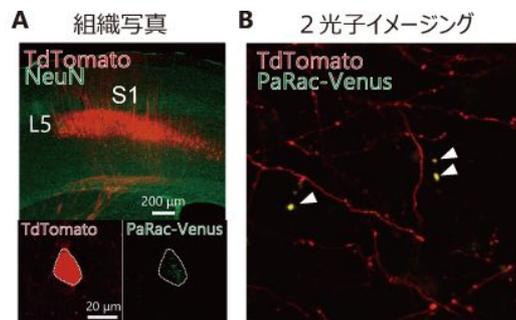


図3 記憶を蓄積した5層錐体細胞の樹状突起スパインを蛍光プローブAS-PaRac1により可視化(Hirai et al, in preparation)

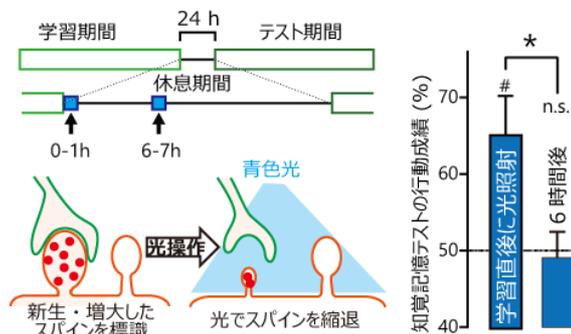


図4 学習直後に新生・増大したスパインを光で縮退させたところ知覚記憶の成績が低下した(Hirai et al, in preparation)

睡眠時に樹状突起スパイクを発生させ、知覚学習に関連したスパインの形成や刈込、メンテナンが行われ、最終的に知覚記憶が固定化されることが示唆された（図5）。

本研究では独自に発見した触知覚に関わるトップダウン回路を記憶の固定化の皮質間モデルとして、“シナプス前細胞のこういった神経活動が必要で、これを受け取るシナプス後細胞がどのような活動を起こすことが記憶の固定化に必須なのか”という問いに対して、生理学的側面からのアプローチを試みた。本研究の結果を突破口として、長く議論が続いていた皮質内における記憶の固定化機序の一端が明らかにできると期待される。今後、睡眠障害モデル動物に対して光操作を行い、学習成績が回復することが明らかになれば、ヒトにおける睡眠障害の病理の解明と治療法の開発に向けた基礎研究基盤の構築が期待できる。

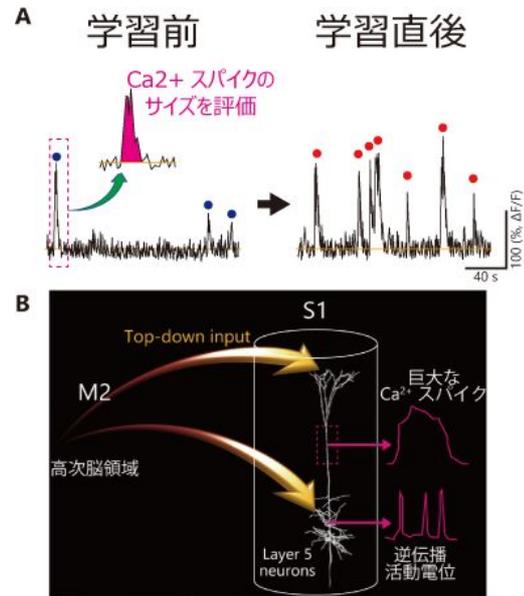


図5 学習直後の睡眠時に出現した巨大な Ca²⁺ スパイク（樹状突起スパイク）

5 . 主な発表論文等

（研究代表者には下線）

[雑誌論文]（計1件）

1. Miyamoto D, Hirai D, Murayama M (2017) The Roles of Cortical Slow Waves in Synaptic Plasticity and Memory Consolidation. Front. Neural Circuits 11:92. doi:10.3389/fncir.2017.000922 査読あり

[学会発表]（計3件）

1. Hirai D, Miyamoto D, Oisi Y, Odagawa M, Matsubara C, Ueno K, Kobayashi K, Hayashi-Takagi A, Murayama M: Corticocortical mechanisms underlying perceptual memory consolidation during NREM sleep, 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies, 2019年3月, 神戸.

2. Hirai D, Miyamoto D, Oisi Y, Odagawa M, Matsubara C, Ueno K, Hayashi-Takagi A, Murayama M: 睡眠時において知覚記憶が固定化する際の皮質間メカニズム, 第41回日本神経科学会, 2018年7月, 神戸

3. Hirai D, Miyamoto D, Oisi Y, Odagawa M, Matsubara C, Hayashi-Takagi A, Murayama M: ノンレム睡眠時における知覚記憶固定化の皮質間メカニズム, 第95回日本生理学会, 2018年3月, 香川

[図書]（計1件）

平井大地, 宮本大祐, 村山正宜 (2017) 睡眠時におけるトップダウン入力と感性の記憶, 生体の科学, 68巻-1号:p69-73

[産業財産権]（計0件）

[その他]（計0件）

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。