

平成21年 5月29日現在

研究種目：若手研究 (B)  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19700284  
 研究課題名 (和文) ラット大脳多電極同時記録から得た集団神経活動による睡眠相変遷ダイナミクスの解明  
 研究課題名 (英文) Multiunit data analysis of transient dynamics of population neural activity in different sleep stages  
 研究代表者  
 姜 時友 (KANG SIU)  
 独立行政法人理化学研究所・脳回路機能理論研究チーム・研究員  
 研究者番号：40415138

## 研究成果の概要：

本研究課題の目的は、睡眠が脳にとっていわゆる休止状態ではなく、むしろ盛んに情報処理関連神経活動を示すアクティブな状態であることを明らかにすることである。具体的には、睡眠-覚醒を繰り返す無麻酔ラット大脳における多細胞同時記録と、神経回路網モデルによる計算機実験を組み合わせることによって、集団神経活動から睡眠相の動的変化を追跡し、大脳新皮質-海馬間相互作用を明らかにするとともに、記憶固定化と関連した脳内ダイナミクスとしての大脳新皮質自己組織化過程を明らかにした。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,200,000	0	2,200,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	330,000	3,630,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：情報学・生体生命情報学

キーワード：睡眠、記憶・学習、UP-DOWN 状態間遷移、大脳新皮質-海馬間相互作用、多細胞同時記録、神経回路モデル、スパイク統計、海馬鋭波リップル

## 1. 研究開始当初の背景

睡眠の相に関する研究は古く、伝統的には、ヒト脳波などの特定周波数成分の混合程度によって、レム睡眠やノンレム睡眠などに分類されてきた。特に学習の固定化と関連して、ノンレム睡眠が重要であることが示唆されている。ノンレム睡眠は徐波あるいは $\delta$ 波とよばれる 1-3Hz 程度の低い周波数の周期的電場変化を示すことが、ヒト脳波や動物の局

所電場電位から明らかになっている。さらには、ヒトの徐波睡眠中に外部から徐波周波数領域の入力を与えると、睡眠前に学習した記憶の固定が向上するという結果も報告されており (Marshall et al. 2006, Nature)、徐波睡眠が記憶の固定化と深い関連にあることが示唆されている。動物、主にラットを用いた電気生理実験においては、睡眠中のスパイク高次相関および大脳新皮質-海馬間相互作用に関して様々な研究がなされてきた。

本研究課題と関連した先行研究として、主に以下の二つのテーマがあげられる。

(1) 睡眠時における記憶固定と関連したスパイクパターンの再生 (メモリーリプレイ)

(2) 海馬鋭波リップルを通じた大脳新皮質－海馬間相互作用

脳における情報の符号化・情報処理過程と関連して、スパイクの時空間パターンは古くから研究されてきたが、覚醒中や麻酔下における刺激提示や課題遂行と関連したものを対象とした研究が多かった。しかし近年は、感覚入力に対する応答や運動出力関連のみならず、睡眠中にも神経発火活動が特定の時空間パターンを示すことが明らかになっている。Wilson らによって、海馬の集団神経活動における特定時空間パターンが、統計的に有意な確率でノンレム睡眠中に再現されることが明らかにされた (Lee & Wilson, 2001, Neuron)。睡眠中には動物が感覚入力や意識レベルの低下を伴うにも関わらずこのような神経活動の再生が見つかったことから、このような現象が覚醒時に入力された記憶の固定化を行うためのものと推測され、メモリーリプレイと呼ばれ注目を浴びた。これらの結果は、ラットの場所弁別課題遂行における学習関連神経活動であり、いずれも海馬の場所細胞における集団神経活動の再活性化であった。最近では McNaughton らによって、遅延課題遂行中ラットの前頭前野集団神経細胞におけるメモリーリプレイが見つかり、さらに、覚醒時のパターンに比べて時間的に 6~8 倍程度圧縮して再生されることなどが明らかになっている (Euston et al. 2007, Science)。

一方、大脳新皮質－海馬間相互作用も記憶の固定化にとって重要であることが示唆されている。場所弁別課題を始め、新規の記憶を貯蔵するために海馬が必要であるが、ひとたび記憶が固定化されると、海馬を取り除いてしまっても動物は課題を遂行することができることから、ひとたび獲得された記憶は新皮質に書き込まれ、以降はそこで保持されるものと考えられている。このような海馬から大脳新皮質への情報の転送は、ノンレム睡眠中に生じるといわれており、睡眠中の大脳新皮質－海馬間相互作用が非常に重要であることが示唆されている。その相互作用の実体として海馬リップル活動が可能性として考えられている。リップルとは、海馬の局所電場電位において 100-300Hz 程度の高周波として観測される瞬間的な鋭波である。Buzsaki らによって、徐波睡眠中に海馬リップルを通じて大脳新皮質のユニット活動が相関を示すことが明らかにされた (Sirota et al., 2003, Proc Nat Acad Sci) のをはじめとして、海馬鋭波リップルが睡眠時情報処理に深く関与している報告が散見しており、海馬

におけるこの瞬間的な高周波活動が、特に大脳新皮質－海馬間相互作用の担い手として非常に重要な意味を持っていることが示唆されている。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、個別神経細胞の集団発火活動に立脚し、大脳新皮質－海馬間相互作用のダイナミクスを明らかにすることである。具体的には、ラットにおける電気生理実験と計算機実験によって、ノンレム睡眠を特徴付ける神経活動とその特性を明らかにし、大脳新皮質－海馬間相互作用を通じた記憶の固定化と関連した神経活動を明らかにすることによって睡眠という脳内現象の神経科学的理解を目指す。特に、以下のような問題を明らかにすることを目標とする。

(1) 睡眠の相や覚醒中に提示された刺激の情報、睡眠中にどのような神経活動によって表現されるのか? : 本研究においては、伝統的な睡眠研究に用いられてきた脳波や局所電場電位のように、多様な信号が混合されてしまったような情報だけでなく、個別神経細胞の集団発火活動という客観的なパラメータを用いて睡眠時の神経活動を数値化・定量化する。例えばそのうちのひとつとして、覚醒中に提示された外界刺激との対応が示唆されている、睡眠時に生成される再生的な神経スパイクパターンが、どのような統計性を持つのかを明らかにし、そこに符号化されている情報を抽出することを目標とする。

(2) 睡眠中の大脳新皮質－海馬間相互作用はどのように記述されるのか? : ノンレム睡眠時には、大脳新皮質における徐波や海馬鋭波リップルと呼ばれる神経活動が顕著に見られることが明らかになっているが、そのような睡眠時特異的な活動を通じた大脳新皮質－海馬間相互作用様式を明らかにすることによって、覚醒時に海馬から与えられた情報が睡眠中に大脳新皮質のスパイクパターンへと変換・保持される機構を明らかにする。本研究課題は、学習・記憶の固定化という視点から、睡眠相変遷過程における大脳新皮質－海馬間相互作用とその機能的意義を明らかにすることである。

## 3. 研究の方法

(1) 神経回路モデル : 近年生体内記録によって、大脳新皮質の神経細胞の膜電位が、その発火閾値下において、UP 状態と呼ばれる閾値直下の状態と、DOWN 状態と呼ばれる静止電位付近の二状態を示し、この二状態間をしばしば自発的・同期的に遷移することが明らかになっている。さらに、切片標本における研究によって、新皮質の各神経細胞における UP

状態への遷移が、ミリ秒の正確さで特定の時系列を繰り返すことが明らかになった

(Ikegaya et al., 2004, Science)。この繰り返しは時に秒のオーダーにまたがって生じることから、ミリ秒の時定数を持つ神経細胞という素子が、認知過程などの比較的長いタイムスケールを表現する情報符号化様式として注目されている。今日では徐波の実体が、同期的に UP-DOWN 状態遷移を行う神経細胞集団の活動によるものだけだということが明らかになっている (Steriade et al. 2001, J Physiol)。さらにはノンレム睡眠中に生起するメモリープレイとの関連があ。古典的な理論神経科学においては、神経活動のパターンが回路結合にどのように保持されるのかを扱ってきたが、そもそも一般的に空間パターンだけでなく時間情報を共に回路に埋め込むのは自明な問題ではない。本研究では、現実的な大脳新皮質神経回路モデルを構築し、それを調べることによって、自発的な UP-DOWN 状態間遷移が、どのようにして自己組織化されるのかを明らかにする。

(2) ラット大脳電気生理記録データの数理解析：本研究段階においては、研究協力者である理研 BSI・磯村宜和博士の協力のもと、無麻酔下にて睡眠-覚醒を繰り返すラットの大脳における多細胞同時記録から得られたデータに対する数理解析を行う。最も基礎的なデータの取得と、できるだけ正確に多くの細胞からデータを得るため、頭部固定ラットにおける記録を実施する。大脳新皮質および海馬から、それぞれ 4 本+1 本のテトロード電極によって、脳波とともに個別神経細胞のスパイク活動を記録するとともに、筋電図とビデオ動画によるモニタも行う。まず、基礎データとして、平均発火頻度や周波数成分および自己相関・相互相関のような二次統計量が、覚醒・レム睡眠・ノンレム睡眠に応じて、さらにはノンレム睡眠中の微細な活動変化に応じてどのように変化するかを定量的に調べる。また、 $\alpha$  (8-13Hz) や  $\theta$  (4-7Hz) および  $\delta$  (1-3Hz) のような脳波のリズム活動と個別細胞の発火の相関を、ピリオドごとに計算する。さらには、大脳皮質のユニット活動から UP-DOWN 状態遷移を推定し、二状態におけるスパイクの同期性の違いを定量化する。また、大脳皮質における UP-DOWN 状態のダイナミクスの差異によって、海馬リプルを構成するスパイク群と、大脳新皮質スパイクの時空間パターンがどのような影響を受けるかを調べることによって、大脳新皮質-海馬間相互作用を明らかにする。

#### 4. 研究成果

現在、計 6 匹・50 時間相当のラット大脳データに対して、記録時間中生起した全ての海

馬鋭波リプルに対し、その平均周波数成分や持続時間、振幅などの基礎統計量が、覚醒・ノンレム睡眠ごとにテーブルとして得られており、高精度のユニット分離も完了済みである。初期解析によると、海馬鋭波リプルに関する統計量そのものには、覚醒およびノンレム睡眠において差異は見られないが、リプル生起時の大脳新皮質の集団発火活動においてのみ違いが見られるという知見が得られている。海馬鋭波リプル生起時刻周辺における大脳新皮質集団発火活動に対して主成分分析 (Principle Component Analysis; PCA) を行ったところ、神経細胞の発火の分布が、PCA 空間において、睡眠と覚醒に分離できる可能性が示された。しかし、このように高精度のユニット分離を前提として数十個の集団神経発火活動を調べても、線形空間における解析を行う限り、瞬間的に睡眠相を判定するという実用性に耐えるような指標として用いることは困難であることが予想されるため、非線形変換を用いるなど、更なる改善が必要である。

また、テンプレートマッチング法を用いて大脳新皮質神経スパイクの時空間パターンを解析したところ、海馬リプル生起時刻を基点として、一般的には時間の経過とともにパターンの再現性を示す高次相関は減衰を示すが、覚醒時よりも睡眠時においてより早く相関の減衰が起きること示された Kang et al., 2008, Neuro2008)。今後はこのような集団活動が生じる条件などに対してさらに詳しく調べ、切片標本記録や神経回路モデルにおいてその存在が示されている、UP 状態遷移による精緻な時系列が生体内でも真に存在しているかを確認し、切片標本との統計性の違いを調べ、睡眠相に応じた時系列の生起確率の変遷を解析する。

また、申請者は、ペースメーカー細胞によって駆動される大脳新皮質回路においてスパイクタイミング依存可塑性による自己組織化過程を通じて、ノンレム睡眠関連神経活動としての UP 状態遷移とその精緻な時系列が生成可能であることを計算機実験によって明らかにした (Kang et al., 2008, PLoS Compt Biol; 他)。大脳新皮質神経細胞による時系列生成の条件を調べることによって、存在のみ頻りに観測されていたが回路内でのその役割が不明であった、二状態間遷移の機能的意義を明らかにした。

#### 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 1 件)

Siu Kang, Katsunori Kitano and Tomoki Fukai  
Structure of spontaneous UP and DOWN

transitions self-organizing in a cortical network model

*PLoS Computational Biology*, 4(3): e1000022, 2008, 査読あり

〔学会発表〕 (計 3 件)

① Siu Kang, Yoshikazu Isomura, Takashi Takekawa, Hideyuki Cateau and Tomoki Fukai  
Multi-neuronal dynamics in rat neocortex and hippocampus during natural sleep  
*Neuroscience Research*, Vol. 61, S189-S189, 2008, 査読あり, 7月9日～11日、東京国際フォーラム

② Siu Kang, Yoshikazu Isomura, Takashi Takekawa, Hideyuki Cateau and Tomoki Fukai  
Multi-neuronal dynamics in rat neocortex and hippocampus as a measure of natural sleep  
*Neuroscience Research*, Vol. 58, S167-S167, 2007, 査読あり, 9月10日～12日、パシフィコ横浜

③ Siu Kang, Yoshikazu Isomura, Takashi Takekawa, Hideyuki Cateau and Tomoki Fukai  
Dynamics of cell assembly in rat neocortex and hippocampus during a natural sleep  
*the 37th annual meeting of the Society for Neuroscience*, 2007, 査読なし, 11月3日～7日, サンディエゴ

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

姜 時友 (KANG SIU)

独立行政法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・脳回路機能理論研究チーム・研究員

研究者番号：40415138