

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：38005

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16305

研究課題名(和文)海馬記憶痕跡による動的な活動パターンが示す文脈情報表象の解析

研究課題名(英文)Contextual information represented by dynamic activity in the hippocampal engram

研究代表者

田中 和正(Tanaka, Kazumasa)

沖縄科学技術大学院大学・記憶研究ユニット・准教授

研究者番号：10772650

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)：動物は日々経験する出来事を記憶として保存し、利用することで、問題の解決や自己の確立に役立っている。このような記憶はエピソード記憶と呼ばれ、哺乳類の脳内では海馬が必要不可欠な役割を果たすことが知られている。申請者は、動物の現在位置を表現する神経細胞と動物が置かれているより一般的な状況(文脈)を表現する神経細胞がそれぞれ個別に記憶痕跡として存在することを明らかにし、海馬にとっての文脈の境界条件を探った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

研究期間内にはマウスを用いて、海馬神経細胞の活動記録を行いながらの行動実験を行った。様々な文脈情報を区別するための記憶課題をマウスに与え、課題遂行時に形成される記憶痕跡の活動を解析することが目的である。

現在は獲得したデータの解析中である。海馬がどのような情報をどのように保存しているのかを理解することができれば、脳の記憶機能についての根本的な理解に迫り、動物の記憶機能を拡張するための外部記憶装置開発などの応用が期待されるであろう。

研究成果の概要(英文)：Animals acquire and use memories of past experiences. This type of memory is called episodic memory and important for solving problems and establishing self-identity. In the mammalian brain, the hippocampus plays an indispensable role for formation and recall of episodic memory.

We have revealed that the hippocampus allocates two types of memory traces - one represents current locations of the animal, and one represents a more general context the animal is placed - to distinct ensembles of neurons. We examined if and how different domains of contextual information can be stored in these two types of the hippocampal memory traces.

研究分野：神経科学

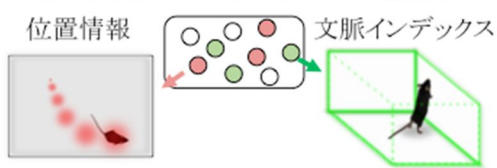
キーワード：海馬 記憶痕跡 場所細胞 最初期遺伝子

1. 研究開始当初の背景

海馬がどのようにエピソード記憶を担うのかという記憶研究の根本的問いに対して、これまで多くの理論が提唱されてきた。2014年にノーベル賞を受賞した場所細胞の発見に端を発する認知地図仮説では、海馬の記憶痕跡は空間内の「位置情報」をコードすると考えた。一方で、海馬の解剖学的・行動学的知見は、海馬の記憶痕跡は経験や「文脈」のインデックス(索引)として機能するという理論を支持している。しかし、これら理論の整合性は不明であった。

申請者は、海馬では「空間内の位置情報」と「文脈」をコードする記憶痕跡が別個の細胞群として存在することを発見した(Tanaka* et al., *Science* 2018)。奇妙なことに、これら2種類の記憶痕跡は異なる表現方式を採用していた(図1)。すなわち、一方は発火のパターンを通して「位置情報」を、もう一方は発火量を通して「文脈」をコードしておりその発火パターンは不安定であった。理論的には、単独の細胞群が発火パターンと発火量を通して「位置情報」と「文脈」の両方を表現しうることを考えると、これは記憶装置として極めて効率の悪いシステムである。そこで申請者は、「文脈」の記憶痕跡が示す一見不安定に見える発火パターンのなかに、より高次の文脈情報がコードされうるのだと仮説を立てた。実際、動的な神経活動パターンが様々な情報をコードしうることは理論的・実験的に報告されている。

図1: 海馬における2種類の記憶痕跡



に、これら2種類の記憶痕跡は異なる表現方式を採用していた(図1)。すなわち、一方は発火のパターンを通して「位置情報」を、もう一方は発火量を通して「文脈」をコードしておりその発火パターンは不安定であった。理論的には、単独の細胞群が発火パターンと発火量を通して「位置情報」と「文脈」の両方を表現しうることを考えると、これは記憶装置として極めて効率の悪いシステムである。そこで申請者は、「文脈」の記憶痕跡が示す一見不安定に見える発火パターンのなかに、より高次の文脈情報がコードされうるのだと仮説を立てた。実際、動的な神経活動パターンが様々な情報をコードしうることは理論的・実験的に報告されている。

的に、単独の細胞群が発火パターンと発火量を通して「位置情報」と「文脈」の両方を表現しうることを考えると、これは記憶装置として極めて効率の悪いシステムである。そこで申請者は、「文脈」の記憶痕跡が示す一見不安定に見える発火パターンのなかに、より高次の文脈情報がコードされうるのだと仮説を立てた。実際、動的な神経活動パターンが様々な情報をコードしうることは理論的・実験的に報告されている。

2. 研究の目的

本研究では、

A. 「文脈」の記憶痕跡が示す不安定な発火パターンが、状況に応じてより高次の文脈情報をコード可能かどうか？

B. 可能だとするならば、海馬にとっての「文脈」情報の境界条件とは何か？

の二つを中心的な問いと設定し、その解明を通して記憶デバイスとしての海馬機能メカニズムのより一般的な理解を目指した。具体的には、

1. 「文脈」を定義する上で特定の位置が特別な意味を持つとき、「文脈」の記憶痕跡は「位置情報」をコードしうるのか決定する。
2. 外部世界の情報により定義される法則性が「文脈」としてコードされうるのか決定し、その表現様式を明らかにする。
3. 動物の内部状態により定義される法則性が「文脈」としてコードされうるのか決定し、その表現様式を明らかにする。

を目的と設定した。

3. 研究の方法

遺伝子組み換えマウス(c-Fos-tTAマウス)を用いた「文脈」記憶痕跡の標識法と、ミニチュア内視顕微鏡(miniscope)を用いた自由行動下マウス海馬からのCa²⁺イメー

ジングを組み合わせ、文脈学習行動課題を遂行するマウスから「文脈」記憶痕跡の Ca^{2+} 活動を記録し、その活動受容野の選択性と安定性を解析した。

4. 研究成果

2019 年度には 1) マウスを用いた行動実験の確立、2) 行動実験遂行中マウスの海馬 CA1 領域からのカルシウムイメージングによる神経活動データの獲得を目指した。1) に関しては、認知的負荷の高い文脈行動課題を設計し、短期間でマウスが学習できるようパラメータの調整を行った。2) に関しては、いくつかの技術的な問題の解決に取り組んだ(後述)。

2020 年度は、研究室主宰者として沖縄科学技術大学院大学(OIST)において記憶研究ユニットを設営した。コロナ渦における研究室セットアップであったため、必要な実験機器や遺伝子組み換えマウスの海外からの輸入に大幅な遅れが生じたものの、現在ではおおむね研究室が稼働していると言える。前述した miniscope によるカルシウムイメージングのデータ取得における技術的問題に関しては、Inscopix 社の nVista を用いることで問題を回避した。本研究計画における実験系を再構築している間、前所属である理化学研究所 McHugh 研究室で獲得したカルシウムイメージングデータの解析を行った。結果、現在広く使われている解析方法にいくつかの深刻な問題が明らかになり、その解決を試みるとともに、現行の解析方法に警鐘を鳴らすための論文を執筆準備中である。

並行して、海馬における記憶表象、ひいては記憶における役割が画一的ではないことを提示する総説論文(Tanaka, *Neuroscience Research*, 2020)と、近年の記憶エンングラムの知見が記憶インデックス仮説とどのように整合性が取れるのかを論じる総説論文(Goode, Tanaka, Sahay, & McHugh, *Neuron*, 2020)を発表した。

本研究計画では、記憶エンングラムが示す不安定な活動の中にコードされる文脈情報の境界条件を探る。この目的のため、認知的な負荷の高い行動実験を設計し、その課題遂行中のマウスの海馬 CA1 錐体細胞において miniscope を通したカルシウムイメージングを行い、様々な様式の文脈情報が記憶エンングラムの活動パターンから読み取れるかどうかを調べる。まず、文脈を定義する上で特定の位置が特別な意味を持つとき、記憶エンングラムが位置情報を安定にコードするのかがどうかを決定するため、空間を探索するマウスに報酬が得られる位置と罰が与えられる位置を学習させる課題を設計した。この課題は比較的容易であり、マウスはわずか1日の学習期間でも、その後のプローブテストで報酬位置を優位に探索し、罰位置を優位に避けた。次に、外部世界の情報によって定義される法則性が文脈として海馬にコードされるのかが決定するため、上記行動実験に改良を加えた。この実験では、空間探索中の聴覚刺激の有無によって報酬と罰の位置が変化する。マウスにとってこの課題の学習にはより長い時間を要するようであり、十分な学習が成立するのに数日の時間を要した。c-Fos-tTA システムを用いた記憶エンングラムの標識には、学習が一日以内に成立するのが望ましいため、学習効率を高めるための実験条件の最適化を行っている。

行動実験と並行して、マウス海馬 CA1 からの miniscope を通したカルシウムイメージングを行った。2019 年度に所属していた理化学研究所神経回路行動生理学研究チーム

では、カリフォルニア大学ロサンゼルス校で開発されたモデルの miniscope を使っていたものの、acquisition system にバグがあることが分かり、チーム独自に新しい acquisition system を開発および公開した (https://zenodo.org/record/3466180#.XpB2VS_CPow)。しかしながら、UCLA miniscope 自体のハードウェア上の技術的問題(電子基板の過剰発熱や data transfer 時の劣化など)は未だ未解決であり、OIST での独立後は Inscopix nVista を用いて問題を回避している。

2019 年度に獲得したカルシウムイメージングデータの解析を OIST 記憶研究ユニットにおいて行った。まずは撮影したカルシウムイメージングの動画データから一つ一つの神経細胞からの Ca^{2+} transients の抽出に取り組んだ。この作業は、1) motion artifacts の除去、2) signal extraction と normalization、3) noise reduction、4) 対象ニューロンの ROI registration など、いくつかの工程からなる。Inscopix が提供する解析ソフトや UCLA miniscope team が公開する解析プログラム、その他数多くの解析プログラムが公開されているものの、そのどれもが十分なパフォーマンスを示しているとは言えなかった。特に ROI registration における問題は深刻であり、一光子顕微鏡であるがゆえにデータの空間解像度が低く、隣接する二つのニューロンからの Ca^{2+} transients がお互いの ROI へと影響を与え、存在しない correlated activity を生み出していた。現在はこれらの問題を解決する解析プログラムを構築中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 0件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tanaka Kazumasa Z.	4. 巻 165
2. 論文標題 Heterogeneous representations in the hippocampus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 1~5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neures.2020.05.002	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Goode Travis D., Tanaka Kazumasa Z., Sahay Amar, McHugh Thomas J.	4. 巻 107
2. 論文標題 An Integrated Index: Engrams, Place Cells, and Hippocampal Memory	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuron	6. 最初と最後の頁 805~820
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neuron.2020.07.011	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件／うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Kazumasa Z. Tanaka
2. 発表標題 Heterogeneous representations in the hippocampus
3. 学会等名 Japan Neuroscience Society, Annual Meeting（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazumasa Z. Tanaka
2. 発表標題 Heterogeneous memory traces in the hippocampus
3. 学会等名 Annual Conference of the Korean Society for Brain and Neural Sciences (KSBNS)（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------