

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：24405

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03356

研究課題名（和文）海馬から他の脳領域への情報分配メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of information distribution mechanisms from the hippocampus to other brain regions

研究代表者

水関 健司（MIZUSEKI, Kenji）

大阪公立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：80344448

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,700,000円

研究成果の概要（和文）：大規模記録法と光遺伝学を融合し、同時記録している神経細胞の投射先脳領域を同定する技術を開発して、ナビゲーションに関わる情報を海馬から下流脳領域へ分配するメカニズムを明らかにした。さらに、古典的な恐怖条件付け学習による恐怖記憶の獲得・定着・想起の過程で前頭前野・扁桃体・腹側海馬から神経細胞の活動を同時記録し、恐怖記憶の定着時と想起時において、高周波オシレーション中に脳領域横断的な神経同期活動が生じることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、ナビゲーションに関わる情報が海馬から下流脳領域へ分配されるメカニズムを明らかにした。さらに、海馬が前頭前野・扁桃体と協調して恐怖記憶の定着と想起を支えるメカニズムを明らかにした。本研究の成果は、認知症や心的外傷後ストレス障害の病態を深く理解し、より優れた予防法や治療法を開発するための基盤になることが期待される。

研究成果の概要（英文）：By combining large-scale recording methods and optogenetics, we have developed a technique to identify the brain regions to which the simultaneously recording neurons project and clarified the mechanism by which information related to navigation is distributed from the hippocampus to downstream brain regions. Furthermore, by simultaneously recording neuronal activity from the prefrontal cortex, amygdala, and ventral hippocampus during the acquisition, consolidation, and recall of fear memories by classical fear conditioning learning, we found that synchronous neuronal activity across brain regions occurs during high-frequency oscillations during consolidation and recall of fear memories.

研究分野：神経科学

キーワード：海馬 海馬台 前頭前野 扁桃体 情報ルーティング 経路特異的 光遺伝学 オシレーション

1. 研究開始当初の背景

海馬はエピソード記憶や場所記憶に中心的な役割を担う。覚醒時ならびに記憶固定化に重要な睡眠時に、海馬とその関連脳領域が適切に情報をやりとりすることによって記憶が成り立つと考えられている(総説: Mizuseki and Miyawaki, *Neurosci Res*, 2017)。げっ歯類の海馬のCA1やCA3の領域には、動物がある特定の場所にいる時のみ発火する「場所細胞」があり、空間認識に重要であることが知られている(O'Keefe & Nadel, 1978)。海馬で処理された情報は「海馬台」と呼ばれる脳領域へ送られ、海馬台にある投射細胞が様々な脳領域へ情報を分配している。このように、海馬台は海馬からの出力に関して重要な位置を占めている。しかし、海馬台の神経細胞がどのような情報を表現しているかはほとんど分かっていない(総説: Matsumoto, Kitanishi, Mizuseki, *Neurosci Res*, 2019)。重要なことに、海馬台の個々の神経細胞は、数ある投射先脳領域のうちごく少数の脳領域にのみ投射している(Naber and Witter, 1998)。このことは、海馬台が投射先によって特有の情報を伝達している可能性を示唆しているが、どのような情報がどの脳領域へ伝達されるのかは全く分かっていない状況であった。

2. 研究の目的

海馬から様々な脳領域へ適切な情報が伝達されることが、エピソード記憶や場所記憶の基盤となる。海馬の情報の大部分は「海馬台」と呼ばれる脳領域から他の脳領域へ出力される。しかし、海馬台でどのような情報が表現され、その情報がどの脳領域へ伝達されるのかはほとんど分かっていない。その最大の理由として、従来の電気生理学的な計測法では、記録している海馬台の神経細胞がどの脳領域へ投射しているか不明な点が挙げられる。そこで本研究では、大規模電気生理学で同時に記録している海馬台の数多くの神経細胞がどの脳領域へ投射しているかを同定する計測技術を開発する。行動課題と計測法を組み合わせ、海馬台の個々の神経細胞がどのような情報を表現し、それらの情報をどの脳領域へ伝達するのかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

従来の電気生理学的な計測法では、記録している細胞がどこに投射しているかは全く分からなかった。そこで、大規模記録と光遺伝学を融合させて、自由行動中の動物から記録している100個程度の神経細胞の出力先脳領域を同定する計測法を開発する。

具体的には、シリコンプローブ多点電極を用いた大規模同時記録法と光遺伝学を組み合わせ、同時記録している多数の神経細胞を投射先によって分類する方法を開発する。多くの神経細胞を同時記録することを目指し、256チャンネルで100個ほどの神経細胞を同時記録できるシステムを構築する。その上で、アデノ随伴ウイルスベクターを用いてラットの海馬台の神経細胞にチャンネルロドプシン(ChR2)を発現させる。次に、海馬台の主要な投射先の脳領域に挿入した光ファイバーを使って、脳領域特異的に青色光で刺激する。これと同時に、海馬台の神経細胞の細胞体からシリコンプローブを用いて大規模同時記録を行う。ChR2を発現している軸索は、投射先脳領域で局所的に光刺激されると忠実・高頻度に軸索でスパイクを生じる。それらのスパイクが短い潜時(<15ミリ秒)と小さなジッター(<1ミリ秒)で逆行性に細胞体へ伝わることを指標に

して、個々の神経細胞の投射先脳領域を同定する。光ファイバーは複数の投射先脳領域に挿入可能であり、1匹のラットから複数の異なる領域へ投射している細胞を同時に記録できる。

開発した計測法を場所探索行動課題に適用し、海馬台の個々の神経細胞がどの脳領域へどのような情報を伝達するのかを明らかにする。具体的には、海馬台の100個ほどの神経細胞の発火活動を一齐に計測しつつ、行動課題をラットに行わせ、個々の神経細胞が表現する情報の種類を明らかにする。引き続いて、各投射先脳領域で光刺激を行い、軸索末端から細胞体へ逆行性に伝播するスパイクを検出することで、発火活動を計測している神経細胞の投射先脳領域を同定する。また、同じ神経細胞を記録中に複数の行動課題を行うことで、海馬台からの情報の分配がどのように機能的にシフトするかを解析する。さらに、記憶固定に重要な睡眠中に、覚醒時のどのような情報が海馬台でリプレイ（再生）されて各脳領域へ伝達されるかを調べる。以上の手順により、海馬台の個々の神経細胞が（1）どのような情報を表現し、（2）どの脳部位に投射し、（3）行動によりいかに機能がシフトし、（4）睡眠中にどのような活動を示すか、を包括的に明らかにする。

4. 研究成果

本研究では、大規模電気生理学で同時に記録している海馬台の数多くの神経細胞がどの脳領域へ投射しているかを同定する計測技術を開発した。そして、開発した計測技術を場所課題中のラットに適用し、海馬台の個々の神経細胞がどのような情報を表現し、それらの情報をどの脳領域へ伝達するのかを調べた。その結果、ラットが歩く速度と道順の情報はそれぞれ帯状皮質と側坐核に選択的に伝達され、場所の情報は側坐核・視床・乳頭体・帯状皮質の4領域に均等に分配されることを明らかにした。

海馬や海馬台では、動物の行動の状態によりシータ波やシャープウェーブ・リップル波などの脳波が発生する。海馬台の個々の神経細胞はシータ波の特定の位相で発火しやすいこと、神経細胞の投射先によって発火しやすいシータ波の位相が異なることを見出した。さらに、ほとんどの海馬台の神経細胞はシャープウェーブ・リップル波の時に発火頻度が著しく上昇するが、視床へ投射する細胞は発火が抑制されることがわかった。すなわち、シータ波やシャープウェーブ・リップル波によって、投射先特異的に発火のタイミングが制御されていることを明らかにした。

海馬 CA1 と海馬台での空間情報の表現の様式を比較し、海馬の神経細胞に比べると、海馬台の神経細胞は場所・速度・道順に対する選択性は低い一方で、神経活動の頻度が高いために海馬と同等の情報量を持ち、さらに神経回路に生じるノイズの影響を受けにくいことを明らかにした。

さらに、空間探索行動中のラットの海馬 CA1 と海馬台の細胞集団の活動を、様々な手法で次元圧縮して神経多様体を同定した。その結果、海馬台と海馬 CA1 では多様体の次元数が異なること、海馬台と海馬 CA1 の多様体は異なる様式で場所、歩行速度、将来の経路を符号化していることが明らかとなった。さらに、多様体を用いて場所、歩行速度、将来の経路をデコーディングした結果、海馬台の多様体を用いた場合の方がデコーディングの精度が高いことが明らかとなった。加えて、多様体と個々の神経細胞の相関様式も、海馬台と海馬 CA1 では異なることが明らかとなった。

さらに、海馬 CA1、CA3、海馬と解剖学的に相互に直接結合している嗅内皮質の興奮性細胞と抑制性細胞の間のスパイク伝達効率を比較した。その結果、領域、細胞層、細胞種によって、前

シナプス細胞の高頻度発火によりスパイク伝達効率が促進される細胞ペアと抑制される細胞ペアの比率が異なること、前シナプス細胞と後シナプス細胞の細胞体間の距離と前シナプス細胞の高頻度発火によるシナプス伝達効率の促進・抑制との相関が異なることが明らかとなった。これらのことは、海馬へ入力する領域、海馬からの出力を受け取る領域によって情報処理と情報表現が異なることを示唆する。

さらに、海馬からの情報が下流脳領域のどのような細胞に直接伝達されるのかを調べる技術の開発を試みた。具体的には、シナプスを介して神経細胞間を順行性に伝搬するアデノ随伴ウイルスである AAV1 ウイルスの技術と、2 種類の DNA リコンビナーゼによって遺伝子再編成を起こす技術を組み合わせることで、2つの脳領域から直接のシナプス入力を受けている細胞に GFP (green fluorescent protein) などのタンパク質を発現させて同定する技術を開発した。

海馬から前頭前野へは解剖学的な投射があるが、海馬と前頭前野がどのように協調して記憶を支えているのかは分かっていない。そこで、本研究では音と嫌悪刺激の連合学習をエピソード記憶のモデルとして用い、この課題に関与する前頭前野と海馬から同時に多数の神経細胞の活動を記録した。その結果、前頭前野には経験（音と嫌悪刺激の連合学習）の前から存在するセル・アセンブリ（同期して活動する細胞集団）が記憶を担っていることが示唆された。次に、各脳領域のセル・アセンブリがどのように相互作用するかを調べた。その結果、経験後のノンレム睡眠中と記憶の想起時に、海馬と前頭前野のセル・アセンブリが同時に活性化されることがわかった。さらに、海馬と前頭前野のセル・アセンブリの領域を跨いだ共活動は海馬の sharp-wave ripples に同期して起こることを見出した。この同期活動の際、海馬のセル・アセンブリのほうが前頭前野のセル・アセンブリよりやや早いタイミングで活動する傾向が見られたことから、海馬のセル・アセンブリが前頭前野のセル・アセンブリの活性化をもたらすことが示唆された。

以上、本研究はナビゲーションに関わる情報が海馬から下流脳領域へ分配されるメカニズムを明らかにした。さらに、海馬が前頭前野・扁桃体と協調して恐怖記憶の定着と想起を支えるメカニズムを明らかにした。本研究の成果は、認知症や心的外傷後ストレス障害の病態を深く理解し、より優れた予防法や治療法を開発するための基盤になることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Miyawaki Hiroyuki, Mizuseki Kenji	4. 巻 13
2. 論文標題 De novo inter-regional coactivations of preconfigured local ensembles support memory	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1-21
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-022-28929-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kitanishi Takuma, Tashiro Mariko, Kitanishi Naomi, Mizuseki Kenji	4. 巻 5
2. 論文標題 Intersectional, anterograde transsynaptic targeting of neurons receiving monosynaptic inputs from two upstream regions	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-022-03096-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Takeuchi Yuichi, Nagy Anett J., Barcsai Livia, Li Qun, Ohsawa Masahiro, Mizuseki Kenji, Berenyi Antal	4. 巻 15
2. 論文標題 The Medial Septum as a Potential Target for Treating Brain Disorders Associated With Oscillopathies	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Neural Circuits	6. 最初と最後の頁 1-24
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fncir.2021.701080	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Kitanishi Takuma, Umaba Ryoko, Mizuseki Kenji	4. 巻 7
2. 論文標題 Robust information routing by dorsal subiculum neurons	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eabf1913
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/sciadv.abf1913	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kurikawa Tomoki、Mizuseki Kenji、Fukai Tomoki	4. 巻 31
2. 論文標題 Oscillation-Driven Memory Encoding, Maintenance, and Recall in an Entorhinal?Hippocampal Circuit Model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cerebral Cortex	6. 最初と最後の頁 2038 ~ 2057
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/cercor/bhaa343	査読の有無 有
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 Mizuseki Kenji、Miyawaki Hiroyuki	4. 巻 -
2. 論文標題 Fast network oscillations during non-REM sleep support memory consolidation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2022.12.019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mizuseki Kenji、Kitanishi Takuma	4. 巻 75
2. 論文標題 Oscillation-coordinated, noise-resistant information distribution via the subiculum	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Current Opinion in Neurobiology	6. 最初と最後の頁 102556 ~ 102556
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.conb.2022.102556	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Umaba Ryoko、Kitanishi Takuma、Mizuseki Kenji	4. 巻 171
2. 論文標題 Monosynaptic connection from the subiculum to medial mammillary nucleus neurons projecting to the anterior thalamus and Gudden 's ventral tegmental nucleus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 1 ~ 8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2021.01.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 水関健司	4. 巻 40
2. 論文標題 ノーベル賞の神経科学 John O' Keefe, May-Britt Moser, Edvard I. Moser (2014) 場所ニューロンの発見	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clinical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1019 ~ 1021
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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12件 (うち招待講演 12件 / うち国際学会 7件)

1. 発表者名 水関健司
2. 発表標題 セル・アセンブリの領域間同期活動による恐怖記憶の全体表現
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kenji Mizuseki
2. 発表標題 Pathway-specific information outflow from the subiculum
3. 学会等名 National Institute of Genetics Symposium "Circuit Construction in the Mammalian Brain" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 水関健司
2. 発表標題 恐怖記憶を支える海馬・扁桃体・前頭前野のセル・アセンブリ同期活動
3. 学会等名 生理学研究所研究会 多様な視点から情動を捉え直す (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kenji Mizuseki
2. 発表標題 Elucidation of information processing in the hippocampus using large-scale electrophysiology and optogenetics
3. 学会等名 Kyoto University Graduate School of Medicine, Neuroscience Lecture (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 水関健司
2. 発表標題 海馬台からの投射先特異的な情報分配メカニズム
3. 学会等名 第98回日本生理学会大会 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 水関健司
2. 発表標題 インビボ大規模電気生理学
3. 学会等名 文部科学省新学術領域研究「マルチスケール精神病態の構成的理解」 第3回若手育成セミナー「神経回路の可視化・操作・モデリングのための最先端技術」 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kenji Mizuseki
2. 発表標題 Robust information routing by dorsal subiculum neurons
3. 学会等名 Kumamoto University Program for Leading Graduate Schools: HIGO program cutting-edge seminar (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kenji Mizuseki
2. 発表標題 Robust information routing by dorsal subiculum neurons
3. 学会等名 The 43rd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 水関健司
2. 発表標題 海馬台における空間情報の表現と情報ルーティング
3. 学会等名 千里ライフサイエンスセミナーT4 脳の情報処理研究の最前線：神経コーディングやオシレーションを中心として (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kenji Mizuseki
2. 発表標題 Elucidation of information processing in the hippocampus using large-scale electrophysiology and optogenetics
3. 学会等名 Kyoto University Graduate School of Medicine, Neuroscience Lecture (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 水関健司
2. 発表標題 大規模電気生理学と光遺伝学を用いた 海馬の記憶メカニズムの解明
3. 学会等名 共創の場形成支援プログラム COI-NEXT政策重点分野 (バイオ分野) 世界モデルとなる自律成長型人材・技術を 育む総合健康産業都市拠点 先端医科学研究セミナー (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 水関健司
2. 発表標題 睡眠中の脳領域横断的な同期活動が記憶を支える
3. 学会等名 日本睡眠学会第47回定期学術集会 シンポジウム24-2 そもそも睡眠とは何か？睡眠の基礎研究の未来を多様な視点から論じる（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>大阪公立大学大学院医学研究科 神経生理学 水関研究室 http://www.med.osaka-cu.ac.jp/physiology2/index.html</p>
--

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
研究協力者	北西 卓磨 (Kitanishi Takuma) (90722116)		
研究協力者	宮脇 寛行 (Miyawaki Hiroyuki) (40785979)		
研究協力者	松本 英之 (Matsumoto Hideyuki) (50511383)		

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	岩瀬 元貞 (Iwase Motosada)		
研究協力者	荒巻 知子 (Aramaki Tomoko)		

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