

令和 6 年 5 月 26 日現在

機関番号：24405

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K06860

研究課題名(和文) 記憶の固定化を支えるシナプス結合の変化とその制御機構

研究課題名(英文) Changes in synaptic connections supporting memory consolidation and their regulatory mechanisms

研究代表者

宮脇 寛行 (Miyawaki, Hiroyuki)

大阪公立大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：40785979

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：記憶は覚醒時の経験を通して獲得され、その後の睡眠中などに定着される。この一連の記憶形成プロセスを通して、脳領域横断的なネットワークが変化していくことが示唆されてきたが、その詳細は不明であった。そこで本研究では、自由に行動しているラットの脳の3つの領域から同時に多数の神経細胞の活動を単一細胞レベルの分解能で、記憶の獲得からその後の定着の初期段階まで連続して記録した。その結果、記憶の定着によって脳領域横断的な同期活動が生じるようになることが明らかとなった。さらに、このような同期活動が生じる際には、シナプス結合の可塑的な変化との関連が指摘されている脳波の速いオシレーション現象が生じることを発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、記憶の定着と脳領域横断的な同期活動が関連しており、これらの同期活動は脳波の速いオシレーションをともなって現れることが明らかになった。これまでの研究により、脳波の速いオシレーションはシナプス結合の可塑的な変化との関連が指摘されている。このことは、脳領域横断的な同期活動が領域横断的な神経回路というマクロの構造と、シナプス結合というミクロの変化をつなぐ現象であることを示唆しており、学術的に大きな意味がある。また、このような記憶メカニズムの基礎過程の解明は、認知症をはじめとするさまざまな記憶機能障害の病態理解と治療原理の発見にも寄与すると期待される。

研究成果の概要(英文)：Memory is acquired through experiences during wakefulness and consolidated during subsequent sleep phases. It has been suggested that a cross-regional brain network undergoes changes throughout this memory formation process, but the details have remained unclear. In this study, we continuously recorded the activity of numerous neurons at a single-cell resolution in three brain regions of freely behaving rats, from the acquisition of memory to the initial stages of its consolidation. We revealed that synchronized activity across brain regions emerged after memory acquisition. Furthermore, we found that such synchronized activity coincides with fast network oscillations, which are presumably related to plastic changes of synaptic connections.

研究分野：神経生理学

キーワード：記憶 大規模電気生理学 睡眠

### 1. 研究開始当初の背景

ヒトを含む動物は経験したことを記憶し、必要に応じてそれを想起することで行動を変化させる。記憶の形成は単一の過程ではなく、まず経験時に短期記憶として獲得され、その後、睡眠中に長期記憶として固定されるという 2 段階の現象であると考えられている。古くから、短期記憶の獲得は海馬によって担われ、長期記憶への固定化は大脳皮質の機能であるとされてきた。しかし、経験時の大脳皮質の持続的な活動も記憶形成に必要であることから、単純な「獲得は海馬、固定は大脳皮質」といった役割分担がなされているわけではないことが明らかになってきている。近年では、記憶のプロセスが進むにともない、脳領域間のネットワークが変化することが重要な役割を果たすと考えられるようになってきている。

また、強い情動をともなう経験はより効率よく記憶されることから、情動を司る扁桃体も記憶の固定に関与していると考えられる。このことは解剖学的な知見からも支持されている。しかし、具体的にどのように脳領域間ネットワークが変化し記憶が固定化されるのかは不明である。

神経ネットワークの変化は、神経細胞間のシナプス結合が変化することによって達成されると考えられている。生体外での実験により、シナプスを介して繋がった神経細胞の活動タイミングの数ミリ秒のズレがシナプス結合の変化を引き起こすことが明らかにされている。これは、シナプス結合を変化させるためには、多数の神経細胞の活動タイミングがミリ秒レベルで精密に制御される必要があることを示唆している。このような精密なタイミング制御には、脳で観察される様々な脳波パターンが重要な役割を担っていると考えられている。とくに睡眠時に主に海馬で繰り返し観察される 100 ミリ秒程度の一過性の脳波パターンであるリップル振動 (SWR: Sharp Wave Ripples) は、覚醒時の活動パターンがミリ秒レベルに圧縮された活動パターンをともない、海馬内のネットワーク構造やシナプス結合の変化を引き起こすことが知られている。また、SWR にともなう活動パターンの再現は新規の経験の後に特に長く続くことなどから、SWR が記憶の固定化に関与すると考えられている。しかし、SWR と脳領域横断的なネットワーク変化の関係も不明である。

### 2. 研究の目的

本研究では、記憶の獲得直後から固定の初期過程の間に脳領域間ネットワークがどのように変化するのか、そしてどのような神経活動がこの変化を駆動しているのかを明らかにすることを目指す。本研究では強い情動をともなう経験が記憶に残りやすいことに注目し、恐怖条件付け学習課題をモデルとして用いることで、記憶の固定化にともなうネットワークの変化を解析する。また、リップル振動の発生タイミングは脳領域間の同期した活動変化により制御されており、リップル振動時には複数の脳領域で同期した活動亢進が見られることから、リップル振動が海馬以外の脳領域にも影響を及ぼしていると考えられる。このことから、脳領域横断的なネットワークの変化とリップル振動の関係に特に注目して解析を行い、脳領域横断的なネットワークを形成する神経活動パターンを明らかにする。

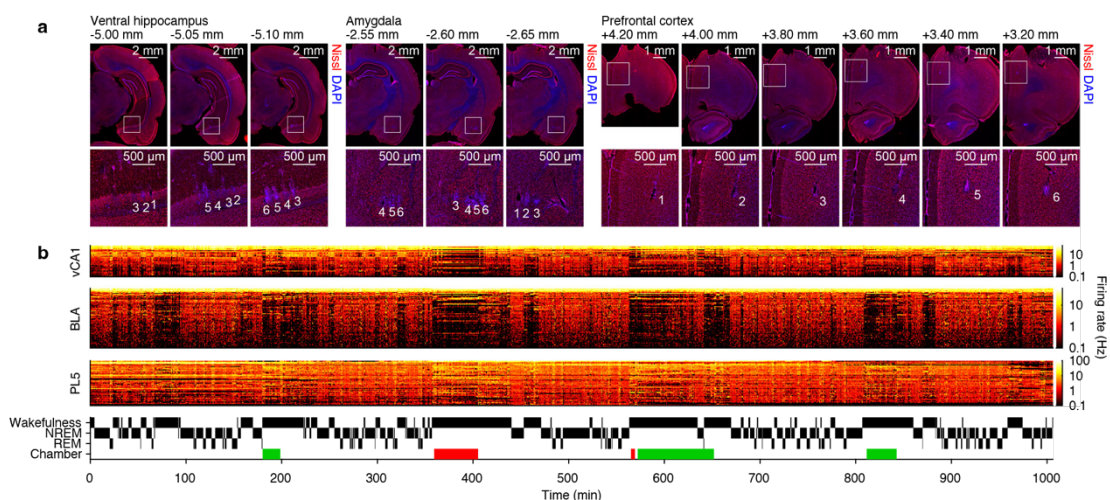


図1 本研究で用いた手法

本研究では、シリコン製多点電極を海馬、扁桃体、大脳皮質前頭前野に留置し、多数の神経細胞の活動を同時に記録した。同時に頸部筋電図ならびに頭部加速度を計測し、皮質脳波や海馬脳波のパワースペクトルと合わせて睡眠・覚醒状態を判定した。

Miyawaki& Mizuseki, K. 2022, *Nat Commun* (doi: 10.1038/s41467-022-28929-x)より、クリエイティブ・コモンズ・ライセンス 4.0 (表示) に基づき改変した。

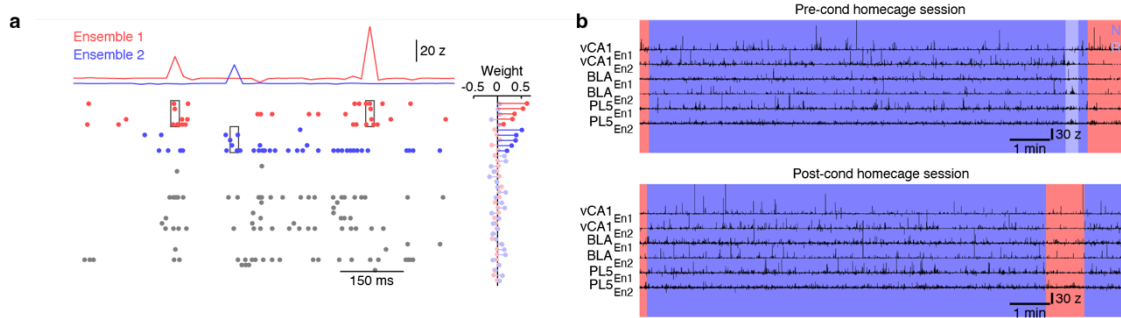


図2 アンサンブルの同定とアンサンブル活動の推定

**a** 行動課題中の神経活動に独立成分分析を適用し、同時に活動するセル・アンサンブルを同定した

**b** 行動課題中に同定されたアンサンブルがいつ、どの程度活動しているかを、課題の前後、ケージで休息・睡眠している間、経時的に推定した。

Miyawaki& Mizuseki, K. 2022, **Nat Commun** (doi: 10.1038/s41467-022-28929-x)より、クリエイティブ・コモンズ・ライセンス 4.0 (表示) に基づき改変した。

### 3. 研究の方法

シリコン製 64 点電極をラットの大脳皮質前頭前野、扁桃体、腹側海馬へと刺入し、これらの 3 領域から同時に、多数の神経細胞の活動を記録した。これらに加え、胸部と頸部にステンレス線を留置し、心電図ならびに頸部筋電図を記録した。さらに、嗅球表層の電位を頭蓋上に固定したネジ電極によって記録した (図 1)。

シリコン製 64 点電極から記録された波形をハイパス・フィルターで処理し、個々の神経細胞の活動に由来する波形を抽出した。さらに、抽出された波形をそれらの相同性に基づき分類することで、個々の神経細胞の活動を推定した。また、海馬に留置したシリコン製 64 点電極から記録された波形から SWR を検出した。同様に、扁桃体や前頭前野に留置したシリコン製 64 点電極からの記録波形から、扁桃体高周波数振動 (HFO: High Frequency Oscillations)、皮質リップル振動 (cRipple: cortical ripples) を検出した。

恐怖条件付け学習中やその想起中の神経活動パターンについて、独立成分分析を用いたアンサンブルの推定を行った (図 2a)。さらに、独立成分分析によって決定されたアンサンブルの活動がいつ、どの程度の強さで再現されているかを、その前後の睡眠中の神経活動から推定した (図 2b)。

### 4. 研究成果

アンサンブルの脳領域横断的な同期活動を評価するため、各アンサンブルについて相関関数解析を行った (図 2 a)。その結果、一部の脳領域横断的なアンサンブルのペアについて、時間差 0 ミリ秒付近に有意なピークを認めた。これは、脳領域横断的なアンサンブルのペアが同期して活性化していることを意味している。さらに、このような同期活動を恐怖条件付け前後の睡眠中において比較すると、恐怖条件付け前に比べて恐怖条件付け後では同期活動を示すペアの割合が有意に高かった。これらのことから、恐怖記憶の獲得にともない、大脳皮質前頭前野と腹側海馬ならびに扁桃体外側基底核の間に同期活動が生じるようになることが明らかとなった。

また、脳波のパワースペクトルをウェーブレット変換により推定し、脳領域横断的な同期活動が生じた際にみられる脳波パターンの解

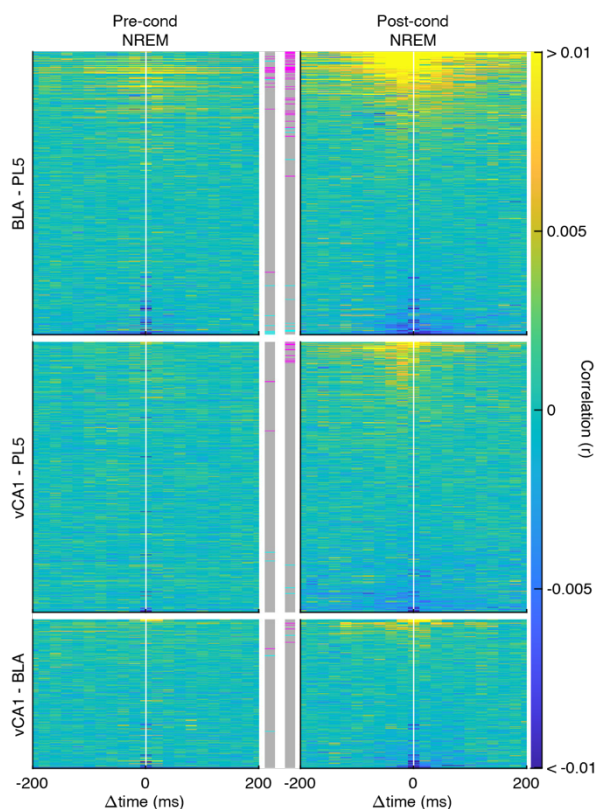


図3 脳領域横断的な同期活動

恐怖条件付け学習前の睡眠中 (左カラム) と学習後の睡眠中 (右カラム) について、脳領域横断的なアンサンブルのペアについて相関関数解析を行った。その結果、統計的に有意なピークを持つペア (中央マゼンタ) が認められ、その割合は学習後の方が学習前より高かった。

Miyawaki& Mizuseki, K. 2022, **Nat Commun** (doi: 10.1038/s41467-022-28929-x)より、クリエイティブ・コモンズ・ライセンス 4.0 (表示) に基づき改変した。

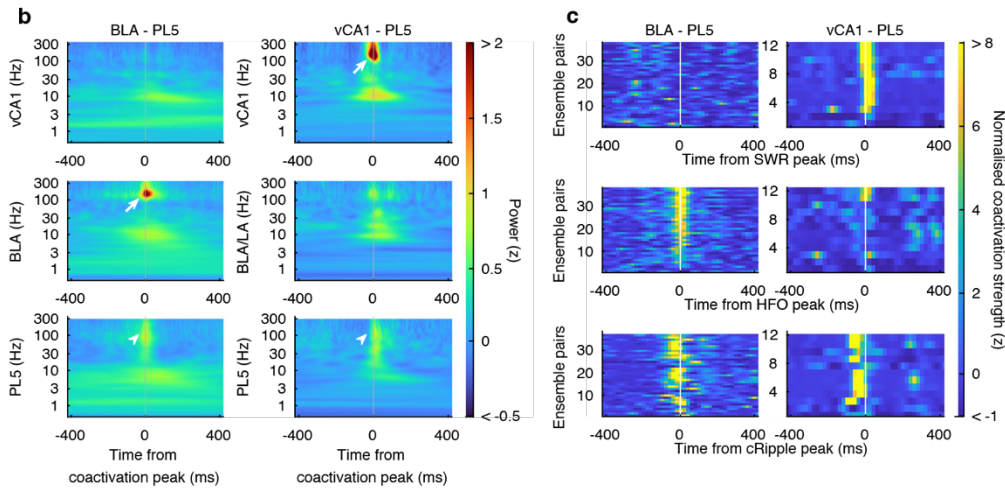


図 4 脳領域横断的な同期活動と高周波数オシレーション

**a** 脳領域横断的な同期活動の前後における各脳領域の脳波のパワースペクトル。100～200Hz の周波数域に強いピークが認められる。

**b** 海馬の SWR、扁桃体の HFO、大脳皮質の cRipple の生じたタイミングにおいて、脳領域横断的な同期活動の強さをプロットした。

Miyawaki & Mizuseki, K. 2022, *Nat Commun* (doi: 10.1038/s41467-022-28929-x) より、クリエイティブ・コモンズ・ライセンス 4.0 (表示) に基づき改変した。

析を行った。その結果、それぞれの脳領域で 100～200Hz の高周波数域に強いピークが認められた (図 4a)。これらは、SWR、HFO、cRipple に対応すると考えられる。そこで次に、SWR、HFO、cRipple を検出し、脳領域横断的な同期活動との関係を解析した (図 4b)。その結果、SWR、HFO、cRipple の生じるタイミングで脳領域横断的な同期活動が強く生じることが明らかとなった。これらは、各脳領域でみられる高周波数の脳波オシレーションによって脳領域横断的な同期活動が担われていることを示唆する結果である。

次に、記憶の獲得時ならびに記憶の想起時の同期活動を比較した。その結果、記憶の獲得後に同期活動を示す扁桃体—大脳皮質のアンサンブル・ペアは、記憶の獲得の際に既に同期した活動を示している (図 5a) のに対し、海馬—大脳皮質の同期活動は記憶の想起の際には生じているが、記憶の獲得時にはほとんど生じていない (図 5b) ことが明らかになった。これらは、記憶の獲得により脳領域横断的な同期活動が生じるようになるが、その同期活動が生じるタイミングは領域ペアにより異なることを示唆している。

続いて、恐怖記憶の消去学習の際に生じるアンサンブルを同定し、消去学習の想起時に生じるアンサンブルとの比較を行った。その結果、消去学習とその想起の両方でみられるアンサンブルが存在する一方で、学習時にはみられるが想起の際にはみられないアンサンブルもあることが明らかとなった。さらに興味深いことに、消去学習後に他の脳領域と同期活動を示したアンサンブルは、示さなかったアンサンブルよりも想起時まで保持されやすいことを示唆する結果を得た。

本研究では、複数の脳領域から多数の神経細胞の活動を同時に記録し、それらのアンサンブルの同期活動を解析した。その結果、記憶の形成により脳領域横断的な同期活動が生じることや、これまで記憶の定着に重要な役割を担っているとされてきた脳波の高周波数オシレーションが同期活動に関与していること、さらに同期活動への寄与とアンサンブルの保持されやすさに相関があることを示唆する結果が得られた。これらは、脳領域横断的なネットワークの動態が、記憶機能に深く関与していることを示唆している。

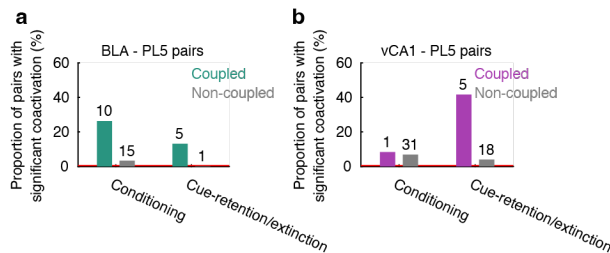


図 5 覚醒時の同期活動

扁桃体と大脳皮質のアンサンブルの同期活動は恐怖条件付け学習時に既に生じていた (a)。一方で、海馬と大脳皮質のアンサンブルの同期活動は、恐怖記憶の想起の際にはみられたが恐怖条件付け学習の際にはほとんど生じていなかった (b)。

Miyawaki & Mizuseki, K. 2022, *Nat Commun* (doi: 10.1038/s41467-022-28929-x) より、クリエイティブ・コモンズ・ライセンス 4.0 (表示) に基づき改変した。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Mizuseki Kenji, Miyawaki Hiroyuki	4. 巻 189
2. 論文標題 Fast network oscillations during non-REM sleep support memory consolidation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 3~12
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 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 1272
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 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Hiroyuki Miyawaki
2. 発表標題 Experience-dependent inter-regional coactivations of cell ensembles support memory
3. 学会等名 The 44th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiroyuki Miyawaki
2. 発表標題 Hippocampal-cortical network dynamics elucidated with multi-regional in vivo large-scale electrophysiology
3. 学会等名 The 100th Anniversary Annual Meeting of The Physiological Society of Japan（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hiroyuki Miyawaki, Kenji Mizuseki
2. 発表標題 Memory-supporting inter-regional networks among local cell-ensembles developed in experience dependent manner.
3. 学会等名 The 99th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiroyuki Miyawaki, Kenji Mizuseki
2. 発表標題 Dynamics of inter-regional cell ensemble interactions underlying memory process
3. 学会等名 The 44th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Miyawaki, H., & Mizuseki K.
2. 発表標題 Multi-regional large-scale electrophysiology revealed that inter-regional coactivations of cell ensembles support fear memory
3. 学会等名 第98回日本生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Miyawaki, H., & Mizuseki K.
2. 発表標題 Dynamics of inter-regional cellular interactions during slow-wave sleep.
3. 学会等名 The Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

記憶で変わる脳内ネットワーク  
<https://www.osaka-cu.ac.jp/ja/news/2021/220315-2>  
脳領域横断的な同期活動の変化が記憶を支える  
<http://physiology.jp/science-topic/25243/>

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
---------	---------