

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07715

研究課題名(和文)固定化した記憶を保持する前頭前皮質の神経活動ダイナミクス

研究課題名(英文)Neural dynamics and memory consolidation in prefrontal cortex

研究代表者

林 勇一郎 (HAYASHI, Yuichiro)

関西医科大学・医学部・博士研究員

研究者番号：90378737

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：げっ歯類の海馬では特定の空間環境でのみ活動するニューロンが発見されており、それらは空間環境の記憶に関与している可能性がある。海馬で形成された記憶は大脳皮質で長期保存されると考えられており、大脳皮質における空間情報の表現は興味深い問題である。そこで4つの空間環境におけるマウス mPFCの活性を記録した。海馬CA1とは異なりmPFCニューロンの大部分は不活性(45%)あるいは4環境で活動(52%)し、1-3個の環境で活動したニューロンは極少数であった(3%)。また、活動を示した環境の数は時間とともに大きく変動した。これらの結果は、mPFCにおける空間環境表現は海馬と異なることを示す。

研究成果の学術的意義や社会的意義

人間を含む多くの動物には空間を認識する能力があり、様々な感覚と記憶を頼りに自分がどんな空間のどこに居るかを知ることができる。この能力が損なわれると社会生活に著しい不都合が生じる。海馬には空間内の場所特異的に活動するニューロンが存在し、場所感覚の基盤をなしていると考えられているが、空間を識別し自分の位置を知る脳内機構は現在も良くわかっていない。一方、大脳皮質にも空間特異的に活動するニューロンが見つかっており、脳の空間認識機構についてより幅広く調べるため、本研究では海馬と大脳皮質の場所表現の違いについて研究した。

研究成果の概要(英文)：Rodents can distinguish between spatial environments and associate them with other behaviorally relevant information. In the hippocampus, a subpopulation of neurons that are active only in a specific spatial environment have been found, and they are likely involved in memory linked to the environment. Because the memory initially formed in the hippocampus is consolidated and stored long-term in neocortex, how spatial information is encoded in neocortex is an intriguing question. To address this, the activity of mouse mPFC in four different environments was recorded. In contrast to the CA1, the majority of mPFC neurons were inactive (45%) or active in all four environments (52%), and neurons active in 1-3 environments were rare (3%). Long-term tracking of mPFC activity revealed that the number of environments in which a cell showed activity was not preserved over time. These results suggest that the context representation in the mPFC is completely different from that in the hippocampus.

研究分野：神経生理学

キーワード：前頭前皮質 カルシウムイメージング 学習

1. 研究開始当初の背景

記憶固定化の標準的な理論によると、記憶はまず海馬で形成されるが、海馬は記憶の一時的な保管庫に過ぎず、長期的には大脳皮質、主に前頭前皮質に貯蔵されると考えられている。海馬における情報の表現様式は、特に空間情報についてはこれまでに多くの蓄積がある。一方で前頭前皮質における空間情報表現は知見が極めて少ない状況であった。

2. 研究の目的

海馬と前頭前皮質の情報表現にはどのような違いが存在するであろうか？これを調べるため、本研究では前頭前野における場所（空間情報）表現を測定し、海馬 CA1 における場所表現と比較検討した。

3. 研究の方法

本研究では、以下に示す2つの実験を行った。実験1では、medial prefrontal cortex (mPFC) ニューロンの空間表現について解析した。実験2では、場所（空間内の一地点）と報酬の関係を mPFC ニューロンがどう表現しているかについて解析した。

実験1

マウスを4つの異なる空間環境（図1）で活動（ランダムな位置に置いたエサ（チョコレート小片）を採取する）させ、mPFC ニューロンの神経活動をカルシウムイメージングにより測定した（図2）。測定には、カルシウムセンサーとして GCaMP6f を使い、アデノ随伴ウイルスベクター（AAV10-hSyn-GCaMP6f）を用いて発現させた。GCaMP6f の蛍光を超小型顕微鏡 UCLA miniscope v3 を独自に改変したもの（www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.01.20.427512v1）を用いて測定した（図2A）。得られた動画データを CNMF-E (Zhou et al., 2018 eLife e28728) により解析して個々のニューロンのカルシウム濃度変化を抽出した。さらにそこから OASIS (Pnevmatikakis et al., 2016 Neuron 89 299) を用いて発火頻度を推定した。上記のデータを用い、各ニューロンが、どの空間で活動するか、あるいは空間内のどの地点で活動するかを調べ、さらにそれが繰り返しの測定でどれほど安定に維持されるかを解析した。

実験2

マウスに場所選好学習タスク (place preference task) を行わせた。このタスクでは、マウスは実験箱内のゴールゾーンを記憶し、そこに1秒間留まればエサがもらえる（図3）。ゴールゾーンには目印がないので、マウスは試行錯誤でゴールゾーン的位置を認識して記憶しなくてはならない。このタスクを実行する動物の前頭前皮質には、場所細胞（空間内の特定の場所で活動する細胞）活動および報酬関連活動（ゴール位置で活動）が生じることが知られている。長期記憶を評価するため、タスクに習熟したのち2週間ブランクを開けてからタスクを再開し、神経活動がどれほど安定に再現されるかを調べる。

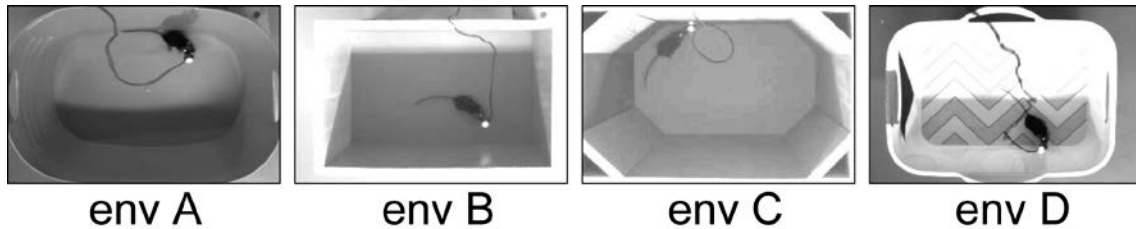


図 1 : マウスを行動させた 4 つのチャンバーを示す

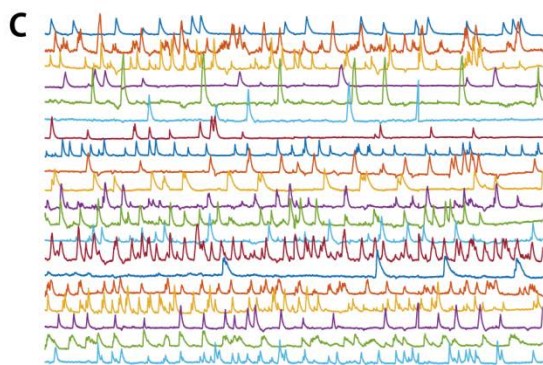
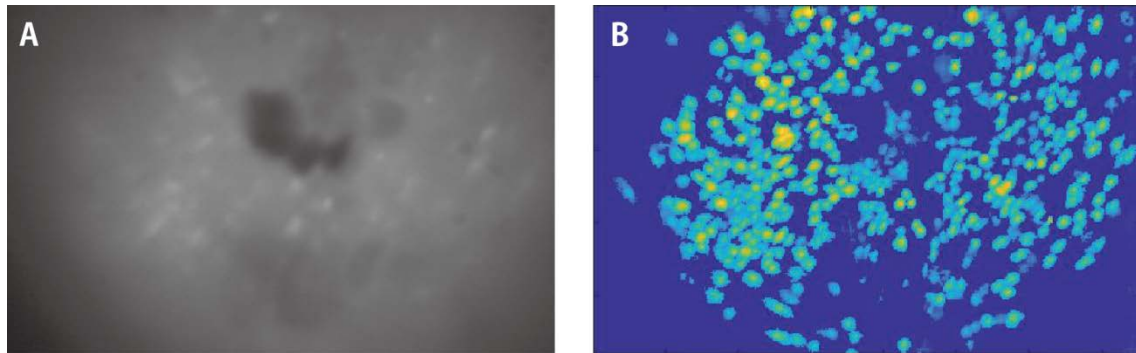


図 2 : A, GCaMP6f を発現する mPFC ニューロンの蛍光画像。B, CNMF-E により蛍光画像から抽出された個々のニューロン像。C, CNMF-E により抽出された個々のニューロンのカルシウム濃度変化。

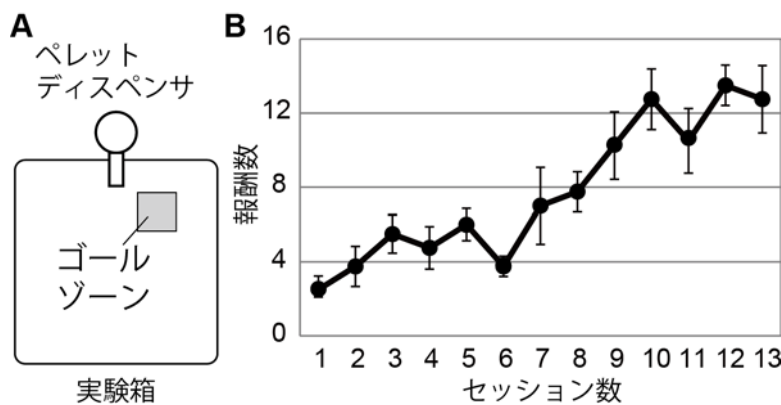


図 3 : A, Place preference task の概要。実験箱内のゴールゾーン（目印はない）に 1 秒間留まるとエサのペレットが得られる。B, 典型的な学習曲線。Hayashi et al, 2016 Neurosci Res 106 70 より改変。

4. 研究成果

実験 1

mPFC ニューロン活動の空間環境を依存性を調べたところ、図 4A に示す通り、各ニューロンの活動した環境の数は 0（全く活動しない）から 4（全ての環境で活動した）までのあらゆる値が観測されたが、1-3 のニューロンは極めて少なく、合計で全体の 3% に過ぎなかった。海馬 CA1 ニューロンの場合は 1-3 個の環境で活動したニューロンが各々 5-10% 程度であつ

た（図4C）のに比べると非常に少ない。すなわち mPFC ニューロンは空間環境に特異的な活動を示すニューロンは極めて少ない。また、mPFC の各ニューロンの「活動した環境の数が時間的に保存されるかどうかを調べたところ、図4B に示す通り保存されていなかった。これも、海馬 CA1 ニューロンの場合は時間的に保存されていた（図4D）ことと対照的であった。

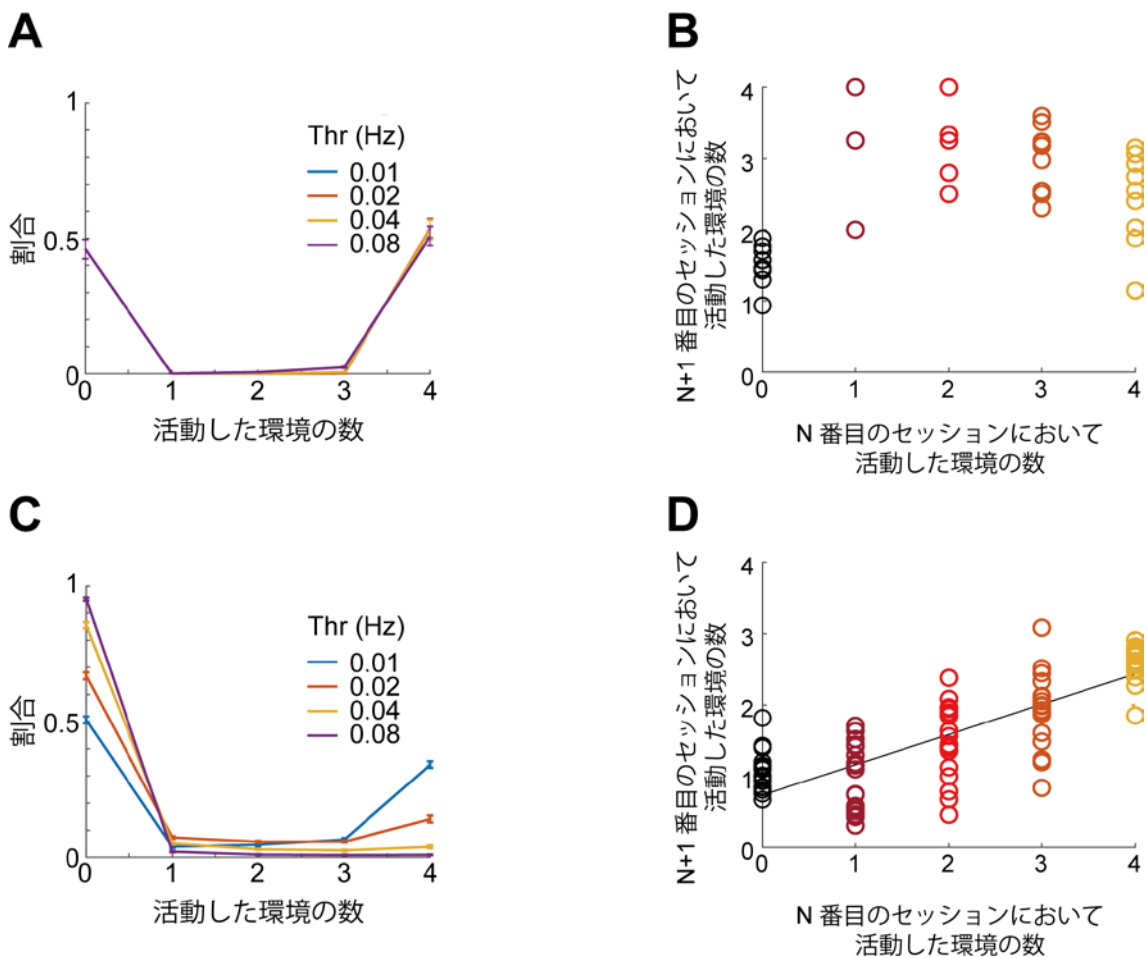


図4：A, mPFC ニューロンを活動した環境の数で分類した。B, mPFC ニューロンの「活動した環境の数」の時間変化。セッション間隔は3日である。C, 海馬 CA1 ニューロンを活動した環境の数で分類した。D, 海馬 CA1 ニューロンの「活動した環境の数」の時間変化。C,D は Hayashi et al., 2023 PNAS e120 e2221141120 より改変。

実験2

マウス mPFC から神経活動記録を行いながら場所選好学習タスクを行わせたところ、以前同種の実験を行った際 (Hayashi et al., 2016 Neurosci Res 106 70) と比較して成績 (時間当たりゴール数) が全般的に低く、学習成績の向上が見られない個体が多かった。以前の実験では神経活動記録は行っていなかったのに対し、今回は顕微鏡を装着しケーブルに繋がれた状態でタスクを行わせている。そのため、動物に負荷がかかり動きが鈍くなっている可能性が考えられる。使用した顕微鏡の重量は4gであり、より軽量化の余地があると考えられた。そこで最近市販が開始された UCLA miniscope v4 (重量約2g) に変更し同様の実験を行っているところである。

結論と展望

mPFC ニューロンの空間情報表現を解析した(実験1)結果、海馬 CA1 における表現と比較して、

1. 空間環境に特異的活動を示すニューロンの割合が少ない。
2. ニューロンの空間環境特異性が時間的に保存されていない。

ことが判明した。このことは、mPFC における空間情報の表現形式は海馬 CA1 の異なっていることを示している。今後各ニューロンの活動の場所情報量等の解析を行い、より詳細な空間情報表現の解析を行う。

また、場所選好学習(実験2)については、タスクの遂行に問題が生じており実験は完了していない。上記に示す通り、新型の顕微鏡を用いて再度実験を行っているところである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Matsuo Tomohiko, Isosaka Tomoko, Hayashi Yuichiro, Tang Lijun, Doi Akihiro, Yasuda Aiko, Hayashi Mikio, Lee Chia-Ying, Cao Liqin, Kutsuna Natsumaro, Matsunaga Sachihiro, Matsuda Takeshi, Yao Ikuko, Setou Mitsuyoshi, Kanagawa Dai, Higasa Koichiro, Ikawa Masahito, Liu Qinghua, Kobayakawa Reiko, Kobayakawa Ko	4. 巻 12
2. 論文標題 Thiazoline-related innate fear stimuli orchestrate hypothermia and anti-hypoxia via sensory TRPA1 activation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 2074
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-22205-0	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 Hayashi-Takanaka Yoko, Hayashi Yuichiro, Hirano Yasuhiro, Miyawaki-Kuwakado Atsuko, Ohkawa Yasuyuki, Obuse Chikashi, Kimura Hiroshi, Haraguchi Tokuko, Hiraoka Yasushi	4. 巻 49
2. 論文標題 Chromatin loading of MCM hexamers is associated with di-/tri-methylation of histone H4K20 toward S ² phase entry	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 12152 ~ 12166
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkab1068	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 Hayashi Yuichiro, Kobayakawa Ko, Kobayakawa Reiko	4. 巻 120
2. 論文標題 The temporal and contextual stability of activity levels in hippocampal CA1 cells	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 2221141120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2221141120	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Yuichiro Hayashi
2. 発表標題 Constrained NMF-based extraction method of calcium activity from wide-field volumetric imaging data
3. 学会等名 第44回日本神経科学学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuichiro Hayashi, Ko Kobayakawa, Reiko Kobayakawa
2. 発表標題 The Temporal and Contextual Stability of Activity Levels in Hippocampal CA1 Cells
3. 学会等名 第45回日本神経科学学会大会
4. 発表年 2022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
---------	---------