

令和 6 年 5 月 17 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K15926

研究課題名（和文）海馬シータ波を生み出す膜電位アセンブリダイナミクスの解明

研究課題名（英文）Membrane potential dynamics underlying hippocampal theta oscillations

研究代表者

松本 信圭（Matsumoto, Nobuyoshi）

東京大学・大学院薬学系研究科（薬学部）・助教

研究者番号：40803143

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）：本研究では、海馬におけるシータ波生成のメカニズムを調べるため、覚醒中および麻酔下のマウスを用いて、海馬CA1野の局所場電位（脳波）と海馬CA1野の複数のニューロンの膜電位を記録した。局所場電位はタングステン電極を用いた細胞外記録法により取得した。また、膜電位はガラス電極を用いたパッチクランプ法により取得した。膜電位のシータ振動の強度および周波数と、局所場電位のシータ波とが、弱いながらも有意な相関があることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、記憶・学習や空間ナビゲーションのような海馬の機能と密接に関連するシータ振動に焦点を当てたもので、認知機能や機能障害のモデルの構築に重要なデータとなりうる。シータ振動の生成に潜む精緻な原理を理解することで、アルツハイマー病やその他の認知機能障害など、記憶に関連する疾患に対する新たな介入につながる可能性がある。さらに、カスタム設計された深層学習モデルが、わずか3つのニューロンの膜電位シータ振動のトレースに基づいてシータ波のトレースを予測できることを実証した。すなわち、複雑な生体信号の解読における機械学習モデルの頑健性を示唆している。

研究成果の概要（英文）：In this study, to investigate the mechanism of the generation of theta oscillations in the hippocampus, the local field potentials in the hippocampal CA1 area and membrane potentials of several neurons in the CA1 area were recorded from awake and anesthetized mice. Local field potentials were obtained by the extracellular recording technique using tungsten electrodes, whereas membrane potentials were obtained by the patch-clamp method. We found a weak but significant correlation between the power and frequency of theta oscillations of the membrane potential and theta oscillations of the local field potentials.

研究分野：神経生理学

キーワード：海馬

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脳波(局所場電位)は多数の神経細胞の電気的活動の集合であり、個々の神経細胞の発火や膜電位を反映している。例えば、動物の記憶や学習に枢要な脳部位である海馬ではシータ波と呼ばれる局所場電位が観察され、シータ波は記憶の獲得に重要とされている。また、海馬の神経細胞の膜電位におけるシータ振動も知られている。従来、発火と局所場電位の関連を調べた研究は多数存在した一方で、膜電位振動の観点から局所場電位の生成メカニズムに迫った研究はほとんど無かった。そこで、本研究では、特に海馬のシータ波に着目し、シータ波の生成メカニズムを膜電位振動の観点から解明する。本目的を達成するために、局所場電位と複数細胞の膜電位の同時記録をおこなう。そして、局所場電位と膜電位の間に見られる法則性と法則に潜む因子を推定する。

2. 研究の目的

海馬は動物の記憶、学習に重要な脳部位であり、これらの機能を支えるのは海馬を構成する神経細胞の活動である。海馬では、これらの個々の神経細胞の活動が集合となり、脳波(以降「局所場電位」)を生み出す。局所場電位は、ヒト、サル、コウモリ、ラット、マウスなどで観察され、様々な脳機能と関連することが知られている。特に海馬で観察される局所場電位のうち、周波数が4~12 Hzのシータ波は、記憶の獲得に重要とされている。

局所場電位に反映される神経活動は、個々の神経細胞の発火(活動電位)および発火閾値に達しない膜電位である(図1)。それにもかかわらず、局所場電位については、発火との関連性を調べた研究が大多数であり、膜電位との関連を調べた研究はほとんど無かった。

申請者は、博士課程在籍時、他の研究グループからの報告と同様、海馬の神経細胞の膜電位がシータ帯域で振動していることを見出した。そこで、申請研究では、特に記憶の獲得に重要な海馬の局所場電位のシータ波と、同じ周波数帯域の膜電位のシータ振動に着目する。そして、膜電位の観点から局所場電位と海馬の神経細胞の活動の関係性に迫ることで、神経細胞の膜電位シータ振動と、局所場電位のシータ波がどのように関連しているかを理解し、シータ波が生み出されるメカニズムに迫る。

本研究の目的は、シータ波が生み出されるメカニズムを複数の神経細胞の膜電位シータ振動の観点から解明することである。

3. 研究の方法

複数のタングステン電極を海馬に留置し、海馬のシータ波が、空間的、または時間的にどのようなダイナミクスを保持しているかを調べた。シータ波の強度、周波数、位相に着目し、これらのパラメータが、海馬の層構造の垂直軸および水平軸に沿って多様であるか、また長時間の記録によって経時的に変動するか、を検討した。

次に、局所場電位と複数細胞の膜電位の同時計測をおこなった。前項で得られたシータ波の多様性の結果を踏まえ、単数または複数細胞の膜電位のシータ振動が、強度および周波数の観点でシータ波とどのように関連しているかを検討した。具体的には、(i) 局所場電位 — 単数細胞の膜電位、(ii) 局所場電位 — 複数細胞の膜電位の組み合わせにおいて、強度や周波数が関連するのかを検討した。

さらに、以上のような局所場電位(以降 LFP)と膜電位の相関関係に基づき、機械学習を用いて、複数のシータ振動のトレース(膜電位)からシータ波のトレース(LFP)が予測できるかを検討した。

4. 研究成果

膜電位シータ振動の性質として、これまでに断続的に生じ、その周波数も一定ではないこと、シータ周期のピーク付近で発火率が上昇することなどを見出した。今回新たに、膜電位シータ振動の中でも、シータ強度と発火率、およびシータ振動の周波数と発火率の関係性は、それぞれ有意な正の傾きを持つ直線に回帰されることを示した。前者の関係性は、シータリズムの生成に抑制性細胞が関わること(Gulyás et al., 2010)、興奮性が高い方が抑制性入力の影響が膜電位に反映されやすいことを踏まえると矛盾しない結果といえる。後者の関係性は、発火がシータ振動のピークで生じることから理解できると同時に、場所受容野における theta phase precession の際の膜電位変動(Harvey et al., 2009)とも矛盾しない結果である。また関係性を評価する解析手法として、ここでは一般化線形混合モデルを用いた。これは、データの構造が各細胞に複数のシータピリオドが格納された形となっており、シータピリオドの性質が細胞ごとに均一ではないと考えられるためである。

LFP シータ波と1細胞の膜電位シータ振動の関係性として、これまでにシータ強度の推移がLFPと正に相関する細胞と相関しない細胞があること、LFPと膜電位に同時に生じたシータ振動の周波数は近いことや、2シグナルのシータ振動の周波数が近いほどシータ強度が高いことを見出した。さらに、LFPと膜電位に同時に近い(差が0.01 Hz未満の)周波数のシータ振動が生じている際の位相差を調べた。その結果、有意な偏りが認められ、差の平均値より膜電位シータ

振動が LFP シータ波より先行していることが示唆された。これは、LFP が膜電位を反映しているという時間的関係性と矛盾しない結果であると考えられる (図 1)。

LFP と 3 細胞の膜電位のシータ強度について、これまでに LFP シータ波強度と 3 細胞の膜電位シータ強度の平均値が約半数のデータにおいて有意な正の相関を示すこと、膜電位シータ強度の高い細胞が多いほど LFP シータ波強度も高いことを示してきた。これらの関係性を踏まえ、LFP シータ強度を 3 細胞の膜電位シータ強度の線形結合により説明できるのではないかと考えた。1 秒のビンごとに各シグナルについてシータ振動のピーク強度を算出し、LFP シータ強度を目的変数、3 細胞の膜電位シータ強度を説明変数として重回帰を行った。得られた回帰係数と 3 細胞の膜電位シータ強度を用いて予測した LFP シータ強度と実際の LFP シータ強度の相関係数(重相関係数)を算出した結果、約半数のデータにおいて有意な相関関係が認められた。従って、少なくとも部分的には LFP シータ強度に複数細胞の膜電位シータ強度が総和として反映されていることが示唆された。有意なデータが半数以下にとどまったことについては、必ずしも線形の関係性だけでは説明できない可能性、必ずしもすべての細胞が LFP と同調しているわけではない可能性が考えられる。

LFP と 3 細胞の膜電位について、上述のシータ強度の関係性のほか、これまでに 3 細胞の膜電位シータ振動の周波数が揃っているほど LFP シータ波が強くその周波数も揃っていることを示してきた。これらから、LFP シータ波と複数細胞の膜電位シータ振動の間にはシータ強度や周波数を含めた一定の関係性があることが示唆される。もし LFP が膜電位を集合的に反映するのであれば、少なくともシータ帯域において複数細胞の膜電位から LFP を予測できるのではないかと考え、あらゆる特徴を同時に考慮することのできる機械学習を用いて予測を試みた。独自に作製したディープニューラルネットワークを用いて 3 細胞の膜電位 (3-10 Hz) を入力、同時記録した LFP (3-10 Hz) を出力として学習させた。データを 10 分割して 9 割を学習に、1 割を検証に用い、RMSE (二乗平均平方根誤差) を指標として予測精度を評価した。その結果、8 割以上のデータにおいて、入力にシャッフルデータを用いた場合より有意に小さい RMSE が得られ、有意に予測できることが示された。わずか 3 細胞の膜電位から LFP を予測できることから、3 細胞のみならず多数の細胞において緩やかに同調したシータ振動が生じており、それらが集合的に LFP に反映されている可能性がある (図 2)。

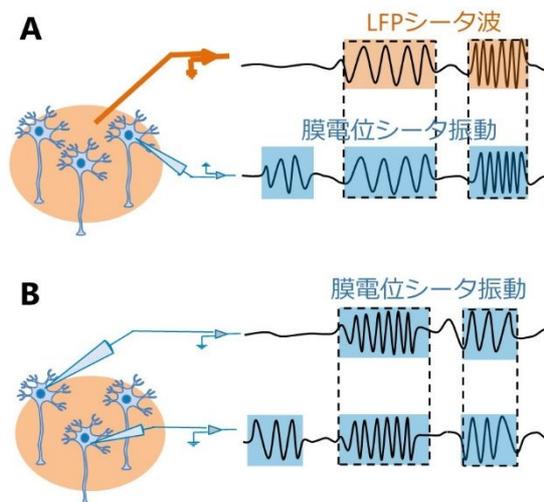


図1: シータ帯域の振動の関係性
A. LFPシータ波と1細胞の膜電位シータ振動の関係性
B. 2細胞の膜電位シータ振動どうし(右; Figure 3)の関係性
いずれにおいても、シータ強度変化および同時に生じたシータ振動の周波数が類似する。

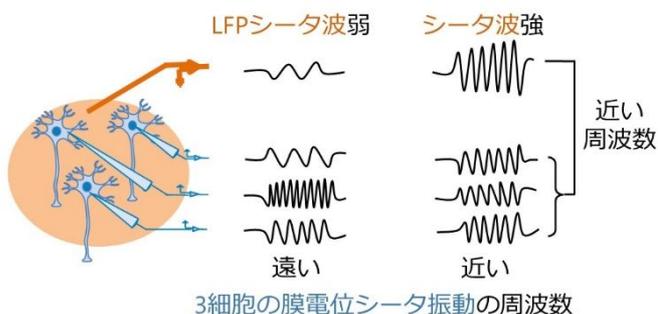


図2: LFPシータ波と3細胞の膜電位シータ振動の関係性
3細胞の膜電位シータ振動の周波数が近い(右)ほど、LFPにおいてより強く周波数の近いシータ波が見られる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Noguchi Asako, Yamashiro Kotaro, Matsumoto Nobuyoshi, Ikegaya Yuji	4. 巻 6
2. 論文標題 Theta oscillations represent collective dynamics of multineuronal membrane potentials of murine hippocampal pyramidal cells	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Communications Biology	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） 10.1038/s42003-023-04719-z	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 Yoshimoto Airi, Shibata Yusuke, Kudara Mikuru, Ikegaya Yuji, Matsumoto Nobuyoshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Enhancement of Motor Cortical Gamma Oscillations and Sniffing Activity by Medial Forebrain Bundle Stimulation Precedes Locomotion	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 eNeuro	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） 10.1523/ENEURO.0521-21.2022	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 Yoshimoto Airi, Yamashiro Kotaro, Ikegaya Yuji, Matsumoto Nobuyoshi	4. 巻 44
2. 論文標題 Acute Ramelteon Treatment Maintains the Cardiac Rhythms of Rats during Non-REM Sleep	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 789 ~ 797
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/bpb.b20-00932	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 Liu Jiayan, Kashima Tetsuhiko, Morikawa Shota, Noguchi Asako, Ikegaya Yuji, Matsumoto Nobuyoshi	4. 巻 15
2. 論文標題 Molecular Characterization of Superficial Layers of the Presubiculum During Development	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroanatomy	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） 10.3389/fnana.2021.662724	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 Konno Daichi, Nishimoto Shinji, Suzuki Takafumi, Ikegaya Yuji, Matsumoto Nobuyoshi	4. 巻 16
2. 論文標題 Multiple states in ongoing neural activity in the rat visual cortex	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	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) 10.1371/journal.pone.0256791	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 Shibata Yusuke, Yoshimoto Airi, Yamashiro Kotaro, Ikegaya Yuji, Matsumoto Nobuyoshi	4. 巻 591
2. 論文標題 Delayed reinforcement hinders subsequent extinction	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 20 ~ 25
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.12.101	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 Kotaro Yamashiro, Megumi Aoki, Nobuyoshi Matsumoto, Yuji Ikegaya	4. 巻 43
2. 論文標題 Polyherbal Formulation Enhancing Cerebral Slow Waves in Sleeping Rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 1356-1360
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b20-00285	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 Airi Yoshimoto, Kotaro Yamashiro, Takeshi Suzuki, Yuji Ikegaya, Nobuyoshi Matsumoto	4. 巻 145
2. 論文標題 Ramelteon modulates gamma oscillations in the rat primary motor cortex during non-REM sleep	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences	6. 最初と最後の頁 97-104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2020.11.006	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 Kotaro Yamashiro, Jiayan Liu, Nobuyoshi Matsumoto, Yuji Ikegaya	4. 巻 15
2. 論文標題 Deep learning-based classification of GAD67-positive neurons without the immunosignal	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroanatomy	6. 最初と最後の頁 643067
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnana.2021.643067	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0件

〔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
---------	---------