

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：23903

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K21557

研究課題名（和文）脳広域に渡る記憶セルアセンブリを再活性化する神経メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of the neural mechanisms that reactivate memory cell assembly across a wide brain area

研究代表者

野村 洋（NOMURA, Hiroshi）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・教授

研究者番号：10549603

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：記憶は脳の広域に保存され、各領域のセルアセンブリが適切に再活性化することで想起されると考えられる。そこで、脳広域に渡る神経活動イメージング法を確立し、記憶を司る脳広域の神経ネットワーク活動を解析することを目的として研究を行った。脳手術やその後のイメージング品質向上の検討を行った。焦点を高速に切り替える方法に加えて、GRINレンズ上部に微小レンズを組み合わせる方法を新たに導入した。報酬条件づけに関わる2領域から同時に神経活動を取得し、2領域にわたって同期して活動する細胞集団の活動を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳機能は、個々の局所回路の演算が適切に下流の領域に伝達されることで実行される。そのため脳の情報処理機構の解明には、複数領域にわたる神経活動の解析が必要である。本研究では記憶に関わる神経活動を脳の広域に渡って解析することに成功した。本手法を用いた解析を促進することで、記憶・学習だけでなく情動や運動、感覚、意思決定などさまざまな脳機能の情報処理機構の解明に貢献できると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Memory is thought to be stored in various brain regions and can be retrieved when the corresponding neural networks are activated. We improved a method for imaging neural activity across large brain areas to study the neural network activity responsible for memory. We reviewed surgery methods and improved imaging quality. In addition to the method of fast focus switching, we introduced a new method of combining microlens on top of the GRIN lens. We simultaneously acquired the neural activity from two regions involved in reward conditioning, and we found synchronous cell population activity across the two regions.

研究分野：神経科学

キーワード：記憶・学習

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

記憶の想起障害は認知症の主症状の 1 つであり、想起の神経機構の解明が期待される。記憶は脳の広域に保存され、各領域のセルアセンブリが適切に再活性化することで想起されると考えられる。しかし、これまでは局所回路のセルアセンブリ研究に比べて、脳広域に渡る記憶回路に関する研究は不十分であった。

2. 研究の目的

そこで、脳広域に渡る神経活動イメージング法を確立し、記憶を司る脳広域の神経ネットワーク活動を解析することを目的として研究を行った。In vivo カルシウムイメージングは、神経活動に伴って生じる細胞内カルシウム濃度の上昇をイメージングすることで、in vivo で多細胞の活動を同時に測定する手法である。本手法は典型的には、局所回路に含まれる多細胞の活動を解析するために有用だが、本研究ではこの in vivo カルシウムイメージングを脳広域に拡張した。

3. 研究の方法

イメージングおよび行動実験を行う時点で 8~20 週齢の C57BL/6J マウスを用いて実験を行った。蛍光カルシウムセンサー GCaMP を、アデノ随伴ウイルスベクターを用いて神経細胞に導入した。脳深部の神経活動をイメージングする際は、直径 0.6 mm あるいは直径 0.5 mm の GRIN レンズを目的の脳領域の上部に挿入し、GRIN レンズを介して励起光の照射と蛍光の取得を行った。大脳皮質広域から神経活動をイメージングする際は、頭蓋骨を露出して経頭蓋によりイメージングを行った。

記憶課題として音と報酬の条件づけを用いた。マウスの頭部を固定して行動実験を行えるように、あらかじめマウスの頭蓋骨にチャンパーフレームを取り付けた。頭部固定に十分に慣らした後に条件づけを行った。条件づけでは、マウスに 1 kHz の音を 4 秒間聞かせ、音開始から 2 秒後にスクロース水を与えた。スクロース水は口元に設置したチューブから約 3 μ L 与えた。スクロース水はシリンジにためておき、口元に設置したチューブとシリンジの間にソレノイドを設置した。数ミリ~数十ミリ秒だけソレノイドを開けることで、重力に従ってスクロース水が流れるようなシステムを構築した。マウスがスクロース水を舐めようとする行動(リッキング)は赤外線センサーで検出した。音の出力、スクロース水提示のためのソレノイドの開閉、赤外線センサーによるリッキングの検出は Raspberry pi で制御した。同じ Raspberry pi のプログラムでイメージングカメラの制御も行うことで、マウスの行動と神経活動を同期して解析することを実現した。条件づけ 1 日目の初期の試行では、マウスは音提示と関係なく自発的にリッキング行動を示し、スクロース水の提示に伴って高頻度でリッキング行動を示した。繰り返し条件づけを行うと、マウスは音提示だけで(スクロース水の提示前に)高頻度でリッキング行動を示すようになった。

4. 研究成果

(1) GRIN レンズを介した脳深部イメージング

複数箇所 GRIN レンズを埋め込み、複数の脳深部領域から同時に神経活動を取得した。GRIN レンズを介した in vivo カルシウムイメージングは技術的に難易度の高い手法であり、1 箇所イメージングの成功率が 70%だとすると、n 箇所から同時にイメージングを行うと成功率は 0.7 の n 乗であり、非常に低くなる。そこで、GRIN レンズ埋め込み速度の検討、各種使用器具の滅菌、出血をなるべく抑える検討、埋込時に安定して GRIN レンズを保持する方法の検討、埋め込み後の GRIN レンズの保護方法の検討、GRIN レンズの傾きを正しくする方法の検討など、脳手術やその後の手法の検討を重点的に行なった。また、同時イメージングする手法として、これまでに私たちが開発してきた焦点を高速に切り替える方法に加えて、GRIN レンズ上部に微小レンズを組み合わせる方法も新たに導入した。

(2) 大脳皮質脳広域のイメージング

経頭蓋により大脳皮質広域から in vivo カルシウムイメージングを行った。頭部の皮膚を切開した後、頭蓋骨の膜を除去し、骨の表面を乾燥させた。その後、骨の表面をシアノアクリレートでコーティングし、乾燥後にシリコンのボンドで保護した。470 nm の励起光と 405 nm の励起光を交互に照射した。470 nm の励起光を照射した時に取得した蛍光の強度を 405 nm の励起光を照射した時に取得した蛍光の強度で補正することで、カルシウム依存的な蛍光強度の変化を算出した。

(3) 連合学習と関連する局所回路および領域間ネットワークの活動

報酬条件づけに関わる 2 領域から同時に神経活動を取得した。報酬条件づけの音提示やスクロース提示によって活動が上昇する細胞や、活動が減少する細胞を検出することに成功した。また、一部の細胞は音提示とスクロース提示の両方に反応した。こうした 2 つの刺激両方に反応する細胞が連合学習に関与する可能性が考えられる。さらに、非負値行列因子分解を用いて、2 領域

にわたる神経細胞を活動パターンに応じて複数の細胞集団に分類した。分類された細胞集団の多くは、一方の領域の神経細胞のみを含むものであった。しかし一部の細胞集団は、2領域の神経細胞を含んでいた。このような領域をわたって同期して活動する細胞集団が領域間の情報伝達に關与する可能性が考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hirano Kyosuke, Morishita Yoshikazu, Minami Masabumi, Nomura Hiroshi	4. 巻 12
2. 論文標題 The impact of pitolisant, an H3 receptor antagonist/inverse agonist, on perirhinal cortex activity in individual neuron and neuronal population levels	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7015
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-11032-y	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 4件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 野村洋
2. 発表標題 失われた記憶を回復させる
3. 学会等名 第9回 IBSセミナー（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 野村洋
2. 発表標題 記憶・学習を調節する脳情報動態の解明
3. 学会等名 「次世代脳」プロジェクト 冬のシンポジウム2021（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 野村洋
2. 発表標題 記憶を回復させる神経回路メカニズム
3. 学会等名 次世代薬理学セミナー 2020 in 仙台
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平野匡佑、南雅文、野村洋
2. 発表標題 連合学習時の多領域にわたる神経集団活動
3. 学会等名 NEURO2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 野村洋
2. 発表標題 記憶の想起を回復させる神経回路機構の解明
3. 学会等名 第1回生理学研究所-遺伝子病制御研究所連携シンポジウム(招待講演)(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiroshi Nomura
2. 発表標題 Neural dynamics regulating a transition between memory retrieval and forgetting
3. 学会等名 The 1st Fujita International Symposium on Brain Science(招待講演)(国際学会)
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
研究協力者	森下 良一 (Morishita Yoshikazu)		

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	平野 匡佑 (Hirano Kyosuke)		

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