

令和 5 年 5 月 17 日現在

機関番号：13201

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2022

課題番号：20K22679

研究課題名(和文) 高次脳機能を担う神経細胞集団による情報処理メカニズムの解明

研究課題名(英文) The mechanisms of information processing by neuronal populations for higher brain functions.

研究代表者

浅井 裕貴 (Asai, Hiroataka)

富山大学・学術研究部医学系・特命助教

研究者番号：60883626

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：クラスター型プロトカドヘリン(Pcdh)の特定のアイソフォームを発現する細胞が海馬皮質間で機能的な接続をする可能性を示した。具体的には、新規空間探索学習により誘導された神経活動マーカーとPcdhの特定アイソフォームの共発現細胞数が皮質海馬間で有意に相関した。海馬上流の皮質におけるPcdhの特定のアイソフォーム発現細胞を人為的に活動させると、海馬の同一アイソフォーム発現細胞で神経活動マーカー発現が上昇した。Pcdhの特定のアイソフォーム発現細胞と神経活動を観察するためのin vivo2色蛍光顕微鏡法を確立し、細胞レベルでの活動にPcdhの特定アイソフォームの発現は影響しないことを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により海馬皮質間での神経活動をする細胞集団が細胞接着分子により予め形成されている可能性が示唆された。これは学習などの高次脳機能時に活動する細胞集団がランダムではなく、発現する分子などで形成された細胞集団が活動時に使われている可能性を示すものである。本研究では、主に興奮性神経細胞に着目して機能的な細胞集団の形成に関して研究を進めてきたが、今後は抑制性神経細胞やグリア細胞といった他の細胞種も含めた細胞集団の形成・機能の研究や海馬皮質間で見られた機能的な接続がより広範囲な脳領域でも見られるか詳細に調べることで、脳内の情報処理メカニズムの解明が期待される。

研究成果の概要(英文)：I showed the possibility that cells expressing specific isoforms of clustered protocadherin (Pcdh) are functionally connected between hippocampus and cortex. Specifically, the number of cells expressing both a specific isoform of Pcdh and a neural activity marker which is induced by novel context exploration significantly correlated between hippocampus and cortex. Artificially activating cells expressing the specific isoform of Pcdh in the cortex, upstream of the hippocampus, increased the expression of neural activity markers in the same isoform-expressing cells in the hippocampus. An in vivo dual colour fluorescence microscopy technique was established to observe cells expressing the specific isoform of Pcdh and neural activity. I found that the expression of specific isoforms of Pcdh did not affect neuronal activity at the cellular level in the hippocampus.

研究分野：神経科学

キーワード：細胞集団 海馬 皮質 高次脳機能 学習 神経接続 クラスター型プロトカドヘリン in vivoイメージング

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

学習・記憶を始めとする高次脳機能は単一の神経細胞というよりも細胞集団（複数の神経細胞）により達成されていることが近年わかってきた。特に空間情報の記憶は、海馬の神経細胞集団に蓄えられていることがわかってきたが、その細胞集団が多数存在する神経細胞の中からどのように選択されるのかわかっていない。本研究では、記憶情報を担う神経細胞集団は予め決められていると仮説を立て、その細胞集団形成に関わる分子群として細胞接着分子のクラスター型プロトカドヘリンに着目した。この分子群は、50種類以上のアイソフォームから構成され、多様かつ特異的な接着分子を形成することから脳における神経細胞集団の形成や複雑な神経回路形成に関わると推測されている。実際に、嗅上皮 嗅球間の投射や海馬へのセロトニン投射にクラスター型プロトカドヘリンが関わることから神経回路の構築に関わることが知られている。また、新規空間探索中に海馬で同期活動する神経細胞の数のクラスター型プロトカドヘリンが影響することからこれらの分子が細胞集団の形成に関与することが知られている。

学習・記憶は脳の果たす高次機能の1つであり、その細胞レベルでのメカニズムを解明することは脳の高次機能の遂行のメカニズム解明に応用しうる。脳の情報処理メカニズムの解明を目指し、本研究では記憶情報を担う神経細胞の選択メカニズムの解明に取り組む。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、脳における細胞集団レベルでの情報処理メカニズムを解明することである。恐怖記憶は海馬の一部の神経細胞に保存されていることが明らかになってきた。そのため、本研究では学習・記憶という高次脳機能を遂行するための情報処理過程で記憶情報を保持する神経細胞がどのように選択されるか明らかにすることを旨とする。

これまでの細胞選択に関連する研究として、比較的興奮性の高い神経細胞が恐怖記憶情報を担う細胞集団になりやすいことが知られている。本研究では活動性の高い細胞同士、低い細胞同士が予め細胞集団を形成していると仮説を立てた。

本研究ではクラスター型プロトカドヘリンの形成する細胞集団が神経活動時にどのように使われるか観察することで、学習・記憶といった高次機能の遂行時の脳内の情報処理メカニズムを明らかにする。

### 3. 研究の方法

クラスター型プロトカドヘリンの特定のアイソフォームを発現する細胞を蛍光標識した遺伝子組換えマウスを用いた神経活動の観察を行うことで、学習・記憶などの高次脳機能を果たすために情報を担う神経細胞集団がクラスター型プロトカドヘリンによって形成された細胞集団であるか明らかにする。本研究では、神経活動の観察を2種類の異なる方法で実施した。

1つ目は、神経活動マーカーの免疫組織化学実験である。この方法は同一個体から複数の脳領域の活動を観察することが出来る。蛍光標識されたクラスター型プロトカドヘリンのアイソフォームを発現する神経細胞が新規空間探索学習により神経活動のマーカーを発現している割合を神経接続する脳領域間で定量評価する。これによりクラスター型プロトカドヘリンが情報伝達の基盤となる細胞集団を形成しているか評価した（実験1）。「クラスター型プロトカドヘリンにより形成された神経細胞集団が情報処理過程で利用されている」ことをさらに検証するために、クラスター型プロトカドヘリンの特定のアイソフォームを発現する神経細胞の神経活動を皮質のみで人為的に操作・誘導することで、皮質の下流の海馬で同一のアイソフォームを発現する神経細胞に活動が誘導されるかを同様に免疫組織化学染色で観察した（実験2）。

2つ目は、*in vivo* カルシウムイメージング実験である。この方法は高い時間解像度で神経活動の観察を可能にする。クラスター型プロトカドヘリンの同じアイソフォームを発現する神経細胞の活動様式を比較した（実験3）。

### 4. 研究成果

特定のアイソフォームを発現する細胞を蛍光標識した遺伝子組換えマウスでの免疫染色による神経活動の観察実験（実験1）の結果、神経活動マーカーとクラスター型プロトカドヘリンの特定アイソフォームを共発現する神経細胞数は、海馬皮質間で有意な相関がみられた。

特定のアイソフォーム発現細胞の神経活動を操作したときの神経活動を免疫染色による観察実験（実験2）を実施するために、神経活動を操作するためのたんぱく質の発現をクラスター型プロトカドヘリンの特定のアイソフォームを発現する細胞で誘導するための遺伝子組換えマウスとアデノ随伴ウイルスを作出した。これらを用いた実験により、皮質の特定のアイソフォームのクラスター型プロトカドヘリンを発現する神経細胞を人為的に神経活動を高めると、人為的

な操作を行わなかった群と比較して、皮質の下流である海馬の同一のアイソフォームを発現する細胞に神経活動が有意に誘導されやすくなっていた。

蛍光標識したマウスでの *in vivo* カルシウムイメージング (実験 3) を遂行するために、自由行動下でマウスの脳から 2 色の蛍光たんぱく質を観察できる顕微鏡法とそのデータ解析法を確立した。その結果、クラスター型プロトカドヘリンの特定のアイソフォームを発現する細胞は、同一アイソフォームを発現しない細胞と細胞レベルでの活動性に違いがないことが分かった。

本研究により海馬皮質間での神経活動をする細胞集団が細胞接着分子により予め形成されている可能性が示唆された。これは活動する細胞集団がランダムではなく、発現する分子などで形成された細胞集団が活動時に使われている可能性を示すものである。本研究では、主に興奮性神経細胞に着目して機能的な細胞集団の形成に関して研究を進めてきたが、今後は抑制性神経細胞やグリア細胞といった他の細胞種も含めた細胞集団の形成・機能の研究や、海馬皮質間で見られた機能的な接続がより広範囲な脳領域でも見られるか詳細に調べることで、より詳細な脳内の情報処理メカニズムの解明が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Mei Hayashi, Hirotaka Asai, Reiko Okubo-Suzuki, Ryosuke Kaneko, Kazuki Fujii, Keizo Takao, Takeshi Yagi, Kaoru Inokuchi
2. 発表標題 The latent neuronal ensembles constructed by Pcdhs function as fundamental units in allocating information
3. 学会等名 Neuro 2022
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

富山大学医学部生化学講座ホームページ <a href="http://www.med.u-toyama.ac.jp/bmb/index-j.html">http://www.med.u-toyama.ac.jp/bmb/index-j.html</a>
---

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