

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：13201

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19426

研究課題名（和文）セルアセンブリ活動変化と記憶の質的遷移の相関関係

研究課題名（英文）The correlation between changes in cell assembly activity and memory strength

研究代表者

鈴木 章円（Suzuki, Akinobu）

富山大学・学術研究部医学系・助教

研究者番号：40424684

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）：我々は、学習を重ねるごとに記憶が強化する繰り返し連合学習に、睡眠が重要な役割を果たすことを発見している。しかしながら、どの脳領域が、睡眠時にどのような神経活動変化を伴い、記憶の質的遷移を誘導するのかは不明である。

このような背景のもと、我々は、繰り返し連合学習に複数の脳領域が関与すること、さらに各脳領域がそれぞれ必要とされるタイミングが異なることを発見した。さらに、これら複数の脳領域より、学習時に活動した神経細胞集団の、睡眠時における活動を捉えるシステムを構築した。そして、この新規システムを用いて、我々は多脳領域より特定神経細胞集団の活動をリアルタイムで計測することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、記憶の本質的な仕組みの理解へと近づくとともに、学習・環境の変化に対応し、柔軟に情報を変換する脳高次機能を知ることにも繋がる。また、生命維持に必須でありながら未だその働きの全貌が明らかになっていない、睡眠の役割とメカニズムの解明の一助となりうる。このように、本研究は記憶と睡眠両分野の橋渡しとなる研究であり、今後の両分野の発展に大いに貢献できる。

また、本実験を遂行するために構築したシステムは、我々の標的とする脳領域以外にも容易にかつ迅速に適用でき、記憶のみならず、様々な脳機能と行動表現の関連を検証することが可能である。

研究成果の概要（英文）： We have found that sleep plays an important role in repetitive associative learning, in which memories are strengthened with each successive learning experience. However, it is unclear which brain regions induce qualitative memory transitions during sleep and with what neural activity changes.

We found that multiple regions are involved in repetitive associative learning and that each brain region is required at different times. We have also developed a system to capture the activity of the neuronal populations active during learning from these multiple brain regions during sleep. Using this novel system, we succeeded in measuring the activity of specific neuronal populations from multiple brain regions in real time.

研究分野：脳科学

キーワード：記憶 セルアセンブリ 睡眠 多脳領域

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

記憶は、学習時に同期活動した神経細胞集団(セルアセンブリ)に保存され、そのセルアセンブリが再活動することで想起される。しかし一言に記憶といっても、一度の学習で形成される強い記憶もあれば、繰り返し学習することで徐々に強化される弱い記憶もあり、繰り返し学習による記憶の強化(質的遷移)とセルアセンブリの関係は明らかではない。

また近年の研究から、脳は課題遂行中だけでなく、休息や睡眠時 = オフライン時にも活動しており、実際に、学習時に活動したセルアセンブリがオフライン時にも再活動することが明らかになっており、睡眠の記憶への重要性が示唆されているが、記憶の質的遷移と睡眠の役割は明らかになっていない。

2. 研究の目的

我々は「光」提示後にリッキングすると「報酬」が得られることを学習させる課題 (**Light-Reward association task**) を用いて、学習回数(日数)を重ねるごとに光と報酬情報の連合が促進し、記憶が強化される(記憶の質的遷移が誘導される)こと、この強化は学習後の断眠により抑制されること、を発見した。また我々は、これまでの研究において 2 つの情報を連合する際に活動する脳領域を複数発見している。これらのことから、オフライン時のセルアセンブリ活動の「領域内変化」だけでなく「領域間相互作用」もまた重要である。

そこで本研究では、「繰り返し学習課題において、睡眠時にセルアセンブリ活動の領域内変化や領域間相互作用が誘導されることで、連合が促進し記憶が強化される」と仮説を立て、「多脳領域よりセルアセンブリ活動を捉え、同時に、それらの活動を操作する新規システム」を構築し、睡眠時のセルアセンブリ活動の領域内変化や領域間相互作用を計測・操作することで、記憶の質的遷移との相関関係を明らかにする。

3. 研究の方法

実験 1: 連合学習を制御する脳領域の検索

マウスに「光」を 1 秒間提示し、その後の 5 秒間にポートを舐める”リッキング行動”をすると、報酬としてスクロースが得られるトレーニングを 1 日 50 回課す。これにより、マウスは光と報酬の関係を学習する (**Light-Reward association task**)。この条件を 7 日間行い、1-3 日のトレーニング後に数時間にわたり、2 つの情報を連合する際に活動する脳領域である、海馬の **CA1**、**Posterior Parietal Cortex (PPC)**、さらに **medial Prefrontal Cortex (PFC)** の活動をそれぞれ抑制し、その後の記憶を評価することで、これら脳領域が連合記憶の質的遷移を制御するか否かを検索する。

実験 2: 新規システムの構築

本研究を遂行するためには、多脳領域より学習時及び睡眠時のセルアセンブリ活動を捉え、それらの領域内及び領域間の活動変化を人為的に操作する技術が必要であり、まずこれらを可能とするシステムを構築する。

そして、構築した新規システムを用いて、学習時や睡眠時のセルアセンブリ活動の領域内変化と領域間相互作用の記憶への役割を明確にするため、実験 3 を行う。

実験 3: 多脳領域内神経細胞活動変化と記憶の質的遷移の法則性の検索

実験 1 で検索した脳領域に **AAV** 感染法により **GCaMP** を発現させたマウスを **Light-Reward association task** に供する。そして、連合制御領域のセルアセンブリ活動を計測し、学習時に光と報酬に反応したセルアセンブリを抽出、その後の睡眠時のセルアセンブリ活動変化を捉える。この操作を 3 日間行い、学習初期から記憶が強化されるまでのセルアセンブリ活動の変化(例: 同調や連続性等)を捉えるとともに、その活動変化を誘導し、セルアセンブリ活動の変化と記憶の質的遷移の相関関係を明らかにする。

4. 研究成果

実験 1: 連合学習を制御する脳領域の検索

Light-Reward association task を用いて、特定のリガンド(**J60**)によって選択的に不活性化を誘導する **DREADD** 法により、繰り返し学習後数時間にわたり、海馬の **CA1**、**Posterior Parietal Cortex (PPC)**、さらに **medial Prefrontal Cortex (PFC)** の活動を抑制した。その結果、各脳領域の活動を抑制した抑制群 (**J60** 群) は **control** 群に比べ、学習能力の低下が観察された (図 1、縦軸は報酬を得た割合=記憶の強さ、横軸は日数

= トレーニング回数を表している)

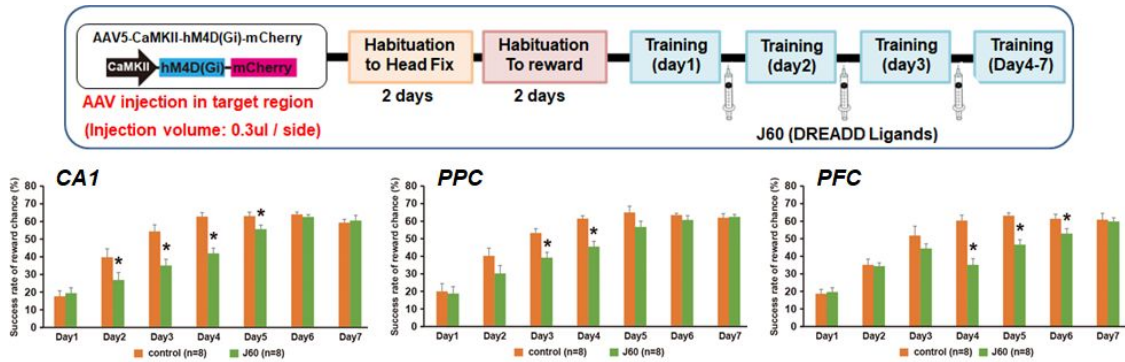


図1

以上のことから繰り返し連合学習にはこれらの領域が関与すること、また単領域の活動のみならず、複数の領域の相互作用が重要であることが示唆された。さらに興味深いことに各脳領域を抑制したとき、その効果が現れるタイミングが異なることを発見した。このことから、時間経過(学習回数)に応じて必要とされる領域が変化することが示唆された(図2)。

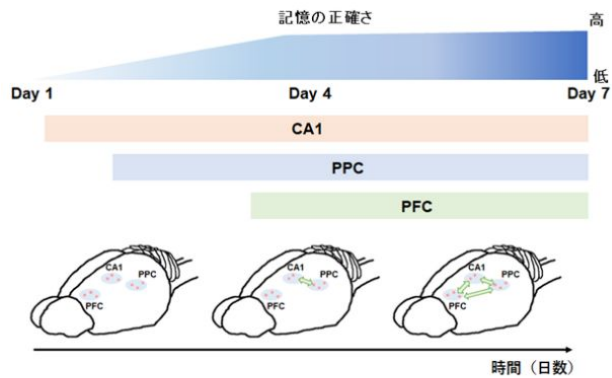


図2

実験 2 : 新規システムの構築

脳波(EEG)や筋電(EMG)を基に覚醒/睡眠状態を判別する「睡眠判定装置」、GCaMP7 (細胞の活動を蛍光として検出可能な蛍光タンパク質)の蛍光を指標として多脳領域よりセルアセンブリ活動を計測する「蛍光内視鏡」、特定のパターンで光照射でき、光感受性タンパク質(Opsin)と組み合わせることで単細胞レベルの活動操作を可能にする「光刺激装置」を組み合わせたシステムを構築した。

実験 3 : 多脳領域内神経細胞活動変化と記憶の質的遷移の法則性の検索

新規システムを用いて、多脳領域より特定神経細胞集団の活動をリアルタイムで計測することに成功した(図3、矢印が活動した神経細胞を表している)。今後、これらのデータを解析し、セルアセンブリ活動の変化と記憶の質的遷移の相関関係を明らかにする。

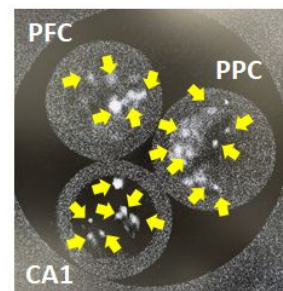


図3

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
---------	---------