

平成 31 年 4 月 29 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04656

研究課題名(和文)海馬体神経回路の細胞種・経路特異的な情報処理機構

研究課題名(英文)Cell-type- and pathway- specific information processing in the hippocampal formation

研究代表者

水関 健司 (Kenji, Mizuseki)

大阪市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：80344448

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：海馬体の神経細胞間の相互作用が経験によってどの様に变化するかを調べた。その結果、バースト発火でスパイク伝達効率が上がる促進的な細胞ペアと下がる抑圧的な細胞ペアがあること、スパイク伝達効率が促進的か抑圧的かは領域と細胞種に依存的事であることを明らかにした。さらに海馬体の経路特異的な情報処理を理解するため、大規模計測と光遺伝学を組み合わせて、投射先を同定した神経細胞の活動を計測する技術を確立した。この技術を用いて、海馬の出力層にあたる海馬台の神経細胞は、投射先の脳領域によって異なる種類の情報を伝達し、各種のオシレーションに対して異なる相関を示すことを示唆するデータを得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、電気生理学ならびに光遺伝学の技術を用いて、海馬からどのような情報がどの脳領域へ分配されるかを明らかにする基盤を築いた。さらに、海馬体の神経細胞間の相互作用が経験によってどの様に变化するかを明らかにした。本研究により、記憶に重要であり、認知症で異常が認められることの多い海馬の情報処理を詳しく調べた成果は、認知症の病態を理解し、より優れた治療法を開発するための基盤となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：To understand circuit-level mechanisms of memory, we investigated how interactions between neurons in the hippocampal formation were modified by experience. We found that burst activity affected the spike transmission probability between neurons. Namely, some cell pairs showed facilitated spike transmission and others showed depressed spike transmission by burst firing. Further, we found that distinct areas/layers and cell-types displayed distinct degree of facilitation and depression in spike transmission.

To understand pathway specific information processing in the hippocampal formation, by combining large-scale electrophysiological recording and optogenetics, we developed a novel method to classify recorded neurons based on their target structures in freely behaving animals. Using this method, we obtained preliminary data showing that subicular neurons projecting to distinct brain regions encode distinct information and show distinct modulation by various network oscillations.

研究分野：神経科学

キーワード：海馬 スパイク伝達 細胞種特異的 経路特異的 情報処理 オシレーション 光遺伝学 大規模記録

1. 研究開始当初の背景

(1) 脳の情報処理は、個々の神経細胞が相互作用し、さらに各脳領域が協調して働くことにより行われている。神経回路は固定されておらず動的であり、神経細胞間・領域間の相互作用は行動や学習によって様々な時間スケールで変化することが示唆されているが、それらが実際の脳で学習ならびに学習に必要な睡眠によってどのように変化するのは不明である。さらに、行動・学習過程・脳状態に応じて、一つの脳領域は複数の脳領域から必要な情報を取捨選択し統合しているのではないかと考えられている。神経発火のタイミングと同期性、正確な神経発火の順番、オシレーションによるセルアセンブリの集団化とセグメンテーション、抑制性細胞による情報の統合と分離などが神経回路内の情報の流れをコントロールしている可能性が示唆されているが、詳細は不明である。

(2) 脳の情報処理のメカニズムを理解するには、脳のどの領域からどの領域へどのような情報が伝達されるのかを知ることが重要である。海馬体は場所・時間・不安・報酬など様々な情報を計算し、その結果を様々な脳領域へ送っている。海馬からの出力の大部分は海馬台から出て、各々異なる機能を持つ様々な皮質ならびに皮質下の脳領域へ投射している。このように海馬台は海馬から他の脳領域へ情報を送る中核的な位置を占めているにも拘らず、海馬台の神経細胞がどのような情報をコードしているかはほとんど分かっていない。これは先行研究では海馬 CA1 の情報表現を調べるのに適した場所課題が主に使われており、海馬台での情報表現を調べるのに適していなかったからと考えられる。重要なことに、海馬台の個々の主細胞は数ある投射先のうちごく少数の脳領域にのみ投射している。このことは、海馬台主細胞がその投射先によって異なる情報を伝達する可能性を示唆しているが、海馬台からどのような情報がどの脳領域へ送られているのかは全く分かっていない。

2. 研究の目的

(1) 行動中の齧歯類の海馬体の複数の領域から数多くの神経細胞の発火と電場電位を高時間分解能で観察して、神経細胞間ならびに脳領域間の相互作用・機能的結合が行動の相、経験、発火パターンによってどのように変化するかを明らかにする。

(2) 場所記憶課題・場所報酬連合課題などの様々な課題をラットに行わせ、場所だけでなく報酬や作業記憶などの情報がどのように海馬台の個々の細胞にコードされているかを調べる。さらに、電気生理学的手法と光遺伝学的手法を組み合わせ、細胞外記録法により記録されている海馬台の主細胞を投射先により分類する方法を確立し、海馬台主細胞の表現する情報の内容と投射先との間にどのような相関があるかを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) ラット海馬 CA1、CA3、歯状回、嗅内皮質から多数の神経細胞の発火と電場電位を同時に記録したデータを使い、神経細胞間のスパイク伝達効率ならびに脳領域間の相互作用が学習の過程、睡眠の前後、ならびに行動の相で変化していく様子を調べる。

(2) 海馬体の経路特異的な情報処理を理解するため、大規模計測と光遺伝学を組み合わせ、投射先を同定した海馬台の神経細胞の活動を計測する技術を開発する。具体的には、アデノ随伴ウイルスベクターを用いてラットの海馬台の神経細胞にチャンネルロドプシン (ChR2) を発現させる。次に、多点電極シリコンプローブを用いて 100 個程度の海馬台の神経細胞の活動を一斉に計測しながら、海馬台の主要な投射先に挿入した光ファイバーを使って脳領域特異的に光刺激する。ChR2 を発現している神経細胞の軸索で生じたスパイクが短い潜時と小さなジターで逆行性に細胞体へ伝わることを指標にして、海馬台の神経細胞の投射先を同定する。投射先を同定できた神経細胞が持つ各種の情報(場所情報・頭方向情報・作業記憶情報など)を定量し、海馬台で観察される各種のオシレーション(シータ・ガンマ・リップル波など)に対する発火の相関、各種の行動状態(課題遂行時・レム睡眠時・ノンレム睡眠時)における発火パターンを精査し、海馬台の神経細胞が各投射先にどのような種類の情報を伝達するのかを明らかにする。

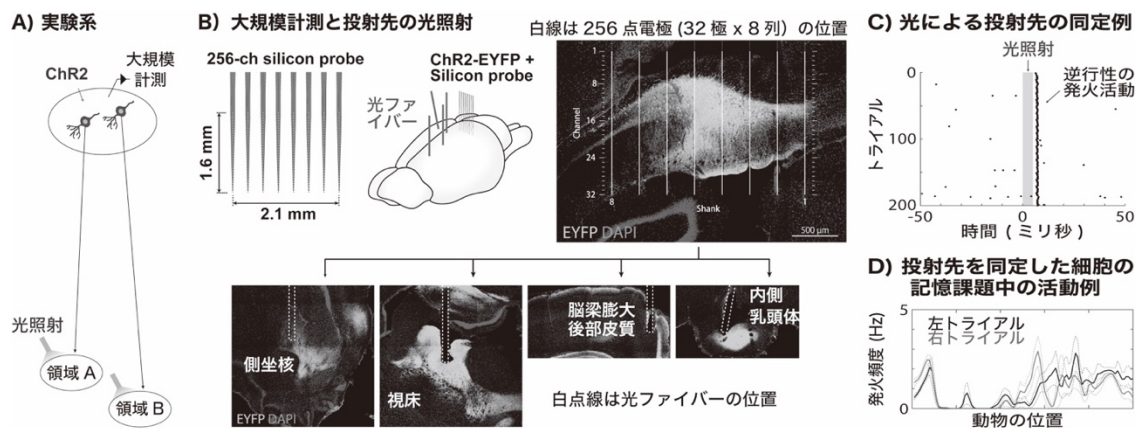
4. 研究成果

(1) ラット海馬 CA1、CA3、歯状回、嗅内皮質から多数の神経細胞の発火と電場電位を同時に記

録したデータを詳細に解析し、バースト発火でスパイク伝達効率が上がる促進的な細胞ペアと下がる抑圧的な細胞ペアがあることを明らかにした。さらに、スパイク伝達効率が促進的か抑圧的かは、領域と細胞種の両方に依存的であることを明らかにした。

(2) 海馬の出力層にあたる海馬台からどのような情報がどの脳領域へ伝達されるのかを明らかにするため、シリコンプローブを用いた大規模同時記録法に光遺伝学を組み合わせて、同時記録している多数の神経細胞を投射先によって分類する方法を開発した(図1)。具体的にはまず、ウイルスベクターを用いてラットの海馬台の神経細胞にチャンネルロドプシン(ChR2)を発現させた。次に、海馬台の主要な投射先の脳領域に挿入した光ファイバーを使って脳領域特異的に青色光で刺激した。これと同時に、海馬台の神経細胞の細胞体からシリコンプローブを用いて大規模同時記録を行った。ChR2を発現している軸索は投射先脳領域で局所的に光刺激されると忠実・高頻度に軸索でスパイクを生じる。それらのスパイクが短い潜時(<15ミリ秒)と小さなジター(<1ミリ秒)で逆行性に細胞体へ伝わることを指標にして、ある特定の領域へ投射している海馬台の神経細胞を同定した。さらに、細胞体と軸索の両方でほぼ同時(数ミリ秒以内)にスパイクが生じた時には、軸索で生じ逆行性に細胞体へ向かうスパイクと、細胞体で生じ順行性に軸索末端へ向かうスパイクが衝突して消滅することを利用した衝突試験を行った。この試験により、投射先脳領域での局所的な光刺激によって、シナプスを介してではなく、軸索で生じたスパイクが細胞体へ逆行性に直接到達していることを確かめた。衝突試験を行うには、細胞体で生じるスパイクと軸索での光刺激がほぼ同時に起こるイベントが多数必要となる。そのようなイベント数を増やすため、個々の神経細胞の発火タイミングでトリガーして各投射先の脳領域に光刺激を与えた。光ファイバーは複数の投射先脳領域に挿入可能であり、1匹のラットから複数の異なる領域へ投射している細胞を同時に記録できた(図1)。

図1. 研究の概要と実験データ (A)海馬台の神経細胞にChR2を発現させて多点電極を挿入し、投射先の脳領域に挿入した光ファイバーを使ってChR2陽性の海馬台神経細胞の軸索末端を光刺激する。(B)実験例。チャンネルロドプシン(EYFP, 白色)と256点(32極 x 8列)からなるシリコンプローブ電極を海馬台に導入し、4か所の投射先領域には光ファイバーを挿入した。(C)光ファイバーを介した光照射により逆行性のスパイクを検出することを指標として、海馬台の神経細胞の投射先を同定した。(D)投射先を同定した神経細胞が行動課題中に示す発火活動パターンを計測し、海馬台から各投射先領域へと伝達される情報の内容を明らかにする。



上記の技術を使って、行動課題(空間探索課題や作業記憶課題など)時と睡眠中に100個程度の神経細胞の発火活動を一斉に計測し、神経細胞の投射先を同定した。計測した活動データから、オフラインでスパイクソーティングにより個々の神経細胞の発火タイミングを抽出し、データ解析を行った。神経細胞が持つ各種の情報(場所情報・頭方向情報・作業記憶情報など)を定量し、海馬台で観察される各種のオシレーション(シータ波・ガンマ波・リップル波など)に対する発火の相関、各種の行動状態(課題遂行時・安静時・レム睡眠時・ノンレム睡眠時)における発火パターンを精査した。その結果、海馬台の神経細胞は、投射先の脳領域によって異なる種類の情報を伝達し、異なる発火パターンで活動し、各種のオシレーションに対して異なる相関を示すことを示唆するデータを得た。この結果は、海馬台が投射先選択的に特有の情報を特有の活動様式を用いて伝達することを示唆するものである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 7 件)

- ① Watanabe, K., Nozaki, S., Goto, M., Kaneko, K.I., Hayashinaka, E., Irie, S., Nishiyama, A., Kasai, K., Fujii, K., Wada, Y., Mizuno, K., Mizuseki, K., Doi, H., Watanabe, Y. (2019). PET imaging of (11)C-labeled coenzyme Q10: Comparison of biodistribution between [(11)C]ubiquinol-10 and [(11)C]ubiquinone-10. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 512, 611-615. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.03.073. 査読有り
- ② Giri, B., Miyawaki, H., Mizuseki, K., Cheng, S., Diba, K. (2019). Hippocampal reactivation extends for several hours following novel experience. *J. Neurosci.* 39, 866-875. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1950-18.2018. 査読有り
- ③ Kobayashi, R., Kurita, S., Kitano, K., Mizuseki, K., Richmond, B. J., Shinomoto, S. (2018). Reconstructing neuronal circuitry from parallel spike trains. *bioRxiv*, 334078. doi: <https://doi.org/10.1101/334078>. 査読無し
- ④ Matsumoto, N., Kitanishi, T., and Mizuseki, K. (2018). The subiculum: unique hippocampal hub and more. *Neurosci. Res.* [Epub ahead of print]. doi: 10.1016/j.neures.2018.08.002. 査読有り
- ⑤ Mizuseki, K., Miyawaki, H. (2017). Hippocampal information processing across sleep/wake cycles. *Neurosci. Res.* 118, 30-47. doi: 10.1016/j.neures.2017.04.018. 査読有り
- ⑥ Kitanishi, T., Ito, H. T., Hayashi, Y., Shinohara, Y., Mizuseki, K., Hikida, T. (2017). Network mechanisms of hippocampal laterality, place coding, and goal-directed navigation. *J. Physiol. Sci.* 67, 247-258. doi: 10.1007/s12576-016-0502-z. 査読有り
- ⑦ Durand, S., Iyer, R., Mizuseki, K., de Vries, S., Mihalas, S., Reid, R. C. (2016). A comparison of visual response properties in the lateral geniculate nucleus and primary visual cortex of awake and anesthetized mice. *J. Neurosci.* 36, 12144-12156. doi: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1741-16.2016>. 査読有り

〔学会発表〕 (計 12 件)

- ① 岩瀬元貞、北西卓磨、水関健司、「Speed representation in the hippocampus and entorhinal cortex」、第 9 回アジア・オセアニア生理学会連合大会&第 96 回日本生理学会合同大会、神戸、2019 年 3 月 30 日
- ② 水関健司、「海馬・扁桃体・前頭前野による記憶と行動決定のメカニズム」、遺伝研研究会『遺伝要因と環境の相互作用による行動決定のメカニズム』、三島、2018 年 9 月 27 日
- ③ 北西卓磨、水関健司、「Large-scale extracellular recording to uncover the mechanism of generating spatial coding in the hippocampus」、新学術領域『生物移動情報学』国際シンポジウム、京都、2018 年 9 月 5 日
- ④ Kenji Mizuseki, 「Optogenetic identification of subicular projection targets during large-scale recording」, Joint symposium of 10th optogenetics research conference and second international symposium on brain information dynamics 2018、東京大学、2018 年 7 月 5 日
- ⑤ 岩瀬元貞、北西卓磨、水関健司、「海馬、嗅内皮質における速度表現」、第 41 回日本神経科学大会、神戸、2018 年 7 月 28 日
- ⑥ Kenji Mizuseki, 「Regulation of neuronal excitability by REM sleep」, Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas, “Principles of memory dynamism elucidated from a diversity of learning systems” 2018 workshop and Meeting, Toyama, 2018 年 3 月 7 日
- ⑦ Kenji Mizuseki, 「Temporal coordination of neuronal activity in the entorhinal-hippocampal loop」, The 4th CiNet Conference - Functional and anatomical connectivity, Center for Information and Neural Networks (CiNet), Suita, 2018 年 2 月 28 日

- ⑧ 北西卓磨、馬場良子、水関健司、「Hippocampal information outflow via subiculum: in vivo recording and anatomical tracing」、新学術領域『行動適応を担う脳神経回路の機能シフト機構』領域会議、東京、2017年12月18日
- ⑨ 水関健司、「睡眠時における海馬の情報処理機構」、日本睡眠学会 シンポジウム『睡眠神経科学の最前線』、横浜、2017年6月29日
- ⑩ Kenji Mizuseki、「Information processing in the entorhinal-hippocampal circuit」、National Institute for Physiological Sciences International Symposium "Towards elucidation of memory engram"、岡崎、生理学研究所、2016年12月5日
- ⑪ 水関健司、「海馬・嗅内皮質の情報処理機構」、日本麻酔科学会 第62回関西支部学術集会 特別講演、大阪、大阪国際物流センター、2016年9月3日
- ⑫ Kenji Mizuseki、「Hippocampal CA1 pyramidal cells form functionally distinct sublayers」、Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Symposium "Network dissection of hippocampal function"、横浜、パシフィコ横浜、2016年7月20日

〔図書〕(計2件)

- ① Mizuseki, K., and Miyawaki, H. (2019) Hippocampal information processing and homeostatic regulation during REM and non-REM Sleep, *Handbook of Sleep Research*, in press、総ページ 約15ページ
- ② 水関健司. (2018). 睡眠-覚醒のサイクルにおける海馬の情報処理機構、*ブレインサイエンス・レビュー* 2018 クバプロ ブレインサイエンス振興財団編集 pp. 327-358.

〔産業財産権〕

- 出願状況 (計0件)
- 取得状況 (計0件)

〔その他〕

ホームページ

大阪市立大学大学院医学研究科 神経生理学

<http://www.med.osaka-cu.ac.jp/physiology2/index.html>

アウトリーチ活動

- ① 水関健司、「記憶とナビゲーションの神経メカニズム」、高校生のための脳科学セミナー(大阪大学神経科学グループ、NPO法人「脳の世紀推進会議」主催)、大阪大学大学院生命機能研究科、2018年8月20日
- ② 水関健司、「海馬の情報処理機構」、第3回杉本・阿倍野ライフサイエンス談話会、大阪市立大学、2017年7月5日

招待講演

- ① 水関健司、「海馬の神経回路における情報処理機構」、名古屋大学環境医学研究所セミナー、2018年4月13日
- ② 水関健司、「海馬の神経回路における情報処理機構」、大阪大学大学院生命機能研究科 生命機能研究科セミナー、2017年7月6日
- ③ 水関健司、「海馬体神経回路の機能発現のメカニズム」、和歌山県立医科大学 大学院特別講義、2016年12月9日
- ④ 水関健司、「海馬・嗅内皮質の情報処理機構」、東京大学医学部 機能生物学セミナー、2016年7月11日
- ⑤ 水関健司、「海馬体神経回路の情報処理機構」、RIKEN Center for Life Science Technologies, RIKEN Molecular Imaging Seminar、2016年6月10日
- ⑥ Kenji Mizuseki、「Temporal coordination of neuronal activity in the entorhinal-hippocampal circuit」、Korea Institute of Science and Technology, 韓国、ソウル、2016年4月20日

6. 研究組織

(1) 研究分担者

なし

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：荒巻 知子

ローマ字氏名：(Tomoko Aramaki)

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。