

令和 2 年 6 月 23 日現在

機関番号：34310

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2019

課題番号：16K13115

研究課題名(和文)海馬場所細胞の可塑性と樹状突起活動の因果関係の解析

研究課題名(英文)Causal relationship between hippocampal neural plasticity and dendritic backpropagations

研究代表者

高橋 晋(Takahashi, Susumu)

同志社大学・脳科学研究科・教授

研究者番号：20510960

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：マルチニューロン活動用電極、刺激用光ファイバを頭部固定し、それぞれを独立に可動できるマイクロドライブを開発することができた。また、行動課題を遂行する動物の海馬において、光刺激から数ミリ秒後に活動する錐体細胞の活動が観察でき、安定した刺激と記録が可能な系を確立し、PV特異的にCre合成酵素を発現するPV-creマウスやラットにChR2を発現させ、光刺激に対する神経細胞活動を観測した結果、周波数に依存せず、光刺激の強度が最も高いゼロ位相で活動頻度が高くなることがわかった。そして、場所細胞が持つ場所情報の可塑的变化の過程と樹状突起逆伝播スパイクの伝播確率との関係について解析した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、海馬場所細胞の可塑性と樹状突起活動の因果関係の一端を理解することができれば、認知神経科学の進展に寄与することはもちろんのこと、その波及効果は、アルツハイマー型認知症を含む認知障害の治療法の開発から、最近開発が進んでいるブレイン・マシン・インタフェース(BMI)、すなわち脳の神経活動だけで外部機器を操作するシステムに、記憶・学習機能を付加することも可能となる。また、深層学習などの人工知能研究に新たなアーキテクチャーや機能の切っ掛けを与えることも可能になる。

研究成果の概要(英文)：The microdrive with electrodes for recording multi-unit activity and optical fibers for stimulation was developed. In addition, in the hippocampus of animals performing a behavioral task, we identified the pyramidal cells that are active a few milliseconds after the light stimulus, suggesting that our system is capable of stable stimulation and recording. We observed the neuronal activity in response to optogenetic stimulation to PV-cre rats and mice in the brain. As a result, we found that the frequency of activity was higher at zero phases, where the intensity of the light stimulus was highest, independent of its frequency. Finally, the relationship between the change in place specific information of place cells and the probability of dendritic backpropagation spikes was analyzed.

研究分野：認知神経科学

キーワード：場所細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

従来の報告では、ニューロンの細胞体と樹状突起が異なるコンパートメントとして働き、それらを統合した情報処理の結果として活動電位が出力されると考えられてきた。また、細胞体から樹状突起へ向かい逆伝播するスパイクが発見され、その樹状突起逆伝播スパイクと神経可塑性との関係性が示唆されている。しかし、その樹状突起逆伝播スパイクが、覚醒下の動物の脳内ニューロン活動の可塑的变化に関与しているかどうかは、不明である。本研究は、独自の斬新な実験技術により、行動中の動物の脳内で、細胞体と樹状突起それぞれの情報処理を区別し解析しようとするものである。このような研究は国内外共にまだない。

すでに本研究代表者は、探索課題を行っているラット海馬内のマルチニューロン活動を解析することにより、場所情報を表現する場所細胞において、樹状突起が受け取った散漫な場所情報が、細胞体から出力されるまでに特定の場所を示す特異的な情報に変換されることを明らかにしてきた。本研究はその成果をふまえ、単一ニューロンの細胞体と樹状突起それぞれの活動を最先端のマルチニューロン活動記録法により弁別し、更にオプトジェネティクスを活用することで、樹状突起逆伝播スパイクと可塑性の因果関係を明らかにしようとするものである。またそこから、脳における情報処理とそのメカニズムについて、従来には無い斬新な視点を提供しようとするものである。

2. 研究の目的

本研究は、ラットが新規な場所情報を獲得する過程で起こる海馬 CA1 野内の場所細胞の活動に着目し、その可塑的变化に関与する樹状突起逆伝播スパイクの役割について解明することを目指す挑戦的な試みである。それは、独自の電気生理学的記録法とデータ解析法に、光遺伝学を活用した神経刺激法を組み合わせることで、ニューロンの臨界期に関する仮説を実証することでもある。同時に本研究は、多様な情報に対応し柔軟に活動するニューロンの実態を実験的に明らかにすることで、既存の情報科学的モデルに新たな神経科学的知見を提供することも目指す。

3. 研究の方法

マルチニューロン活動記録法、光刺激法、及びデータ解析法を統合し、実際にラットが未経験な場所を認知している際のマルチニューロン活動を記録し解析を進める。具体的方法は下記の通りである。

- (1) 海馬 CA1 野の錐体細胞層を中心にマルチ電極を刺入し、その動物が未経験の実験環境内で餌を求めて行動している際、マルチニューロン活動を記録し続ける。マルチニューロン活動と同時に計測している局所脳波(LFP)に鋭波とリップル波を確認することで錐体細胞層を判別する。
- (2) 記録したマルチニューロン活動を個々のニューロン活動に選別し、それぞれのニューロンに対して、スパイクの波形情報から細胞体、樹状突起の判別を行う。
- (3) パルバルブミン陽性細胞への光刺激に対する樹状突起逆伝播スパイクの反応と、相互相関解析法を用いて、細胞体から樹状突起へ逆伝播するスパイクを検出し、単一ニューロンの細胞体と樹状突起のペアを検出する。
- (4) 動物が未経験の環境を認知する際には、場所細胞が持つ場所情報が数分で可塑的に変化することが知られている。その可塑的变化の過程と樹状突起逆伝播スパイクの伝播確率との関係について、場所情報量を中心として解析する。また同時に、樹状突起逆伝播スパイクを抑制し制御していることが示唆されている介在細胞のパルバルブミン陽性細胞の活動を神経刺激により制御することで、可塑性と樹状突起逆伝播スパイクの因果関係を解析する。

4. 研究成果

本研究では、場所細胞活動や脳波を安定的に記録するとともに、特定の場所細胞を選択的に刺激する技術が必要不可欠である。そこで、海馬に正確にアクセスするため、マイクロドライブ(電極留置装置)を独自に設計・開発した。3D CADによる設計と3Dプリンタによりプロトタイプを迅速に作成し、動物でのテスト実験を繰り返すことで、マルチニューロン活動・局所脳波記録用電極、刺激用光ファイバを頭部固定し、それぞれを独立に可動できるマイクロドライブを開発することができた。

続いて、本研究で開発した場所細胞活動記録・刺激技術の性能を評価するために、興奮性

の錐体細胞に対して、アデノ随伴ウイルスを介して特異的に光感受性タンパク質チャンネルロドプシン 2(ChR2)を発現させ、開発した刺激用光ファイバから照射した光に連動して興奮する神経細胞活動を記録した。行動課題を遂行する動物の海馬において、光刺激から数ミリ秒後に活動する錐体細胞の活動が観察でき、安定した刺激と記録が可能であると評価することができた。

介在細胞は、神経化学マーカーにより幾つもの種類に分けることができるが、本研究では、発火頻度が高く、脳波発生に最も寄与すると考えられるパルプアルブミン(PV)陽性細胞に着目した。そして、遺伝子組換え技術である Cre-LoxP システムを活用することで、青色光で神経細胞を興奮させることができる ChR2 を PV 陽性細胞に特異的に発現させた。具体的には、PV 特異的に Cre 合成酵素を発現する PV-cre マウスやラットに、ChR2 を組み込んだアデノ随伴ウイルスを注入し、PV 陽性細胞だけに ChR2 を発現させた。本実験では、これらの PV-cre 動物の頭部にマイクロドライブを装着することで、光刺激に対する神経細胞活動を観測した。

脳波や神経細胞活動が PV 陽性細胞の活動リズムに対して、どのように反応するかは不明であるため、0Hz から 130Hz までの周期的なパターンを連続的に発生することができるチャープパターンで光刺激を行った。まず、光刺激のターゲットである抑制性の PV 陽性細胞と興奮性の錐体細胞がどのようにその発火頻度を変調させるのかを調べた。その結果、PV 陽性細胞は、周波数に依存せず、光刺激の強度が最も高いゼロ位相で活動頻度が高くなることがわかった。これは、PV 陽性細胞が光刺激に正確に反応し、光により制御できていることを示している。加えて、錐体細胞活動のゲインマップを調べたところ、上昇時には 8~30Hz 付近の刺激パターンの-90 度位相でゲインが最大になることがわかった。これは、ベータ波(13-30Hz)の周期で抑制性刺激が入ると、錐体細胞活動が特異的に上昇することを示している。次に、PV 陽性細胞と錐体細胞それぞれが刺激パターンとどのような関連性があるのかをコヒーレンス解析を用いて調べた。その結果、錐体細胞は 10Hz-40Hz の刺激に対してコヒーレンスが高くなるのに対して、介在細胞にはそのような傾向が見られなかった。さらに、ホワイトノイズに 0Hz~130Hz のバンドパスフィルターを適用したノイズを作成し、これを刺激パターンとした実験を行った結果、チャープパターンのような周波数特異的なコヒーレンス上昇は見られなかった。これらの結果から周波数刺激に対して過剰に同期活動するような神経回路網の機能的あるいは生化学的変化があることが示唆された。

これらの成果をもとに、動物が未経験の環境を認知する際に、場所細胞が持つ場所情報の可塑的変化の過程と樹状突起逆伝播スパイクの伝播確率との関係について、場所情報量を中心として解析した。

<研究業績>

1. Hoshino, S., Takahashi, R., Mieno, K., Tamatsu, Y., Azechi, H., Ide, K., Takahashi, S., "The reconfigurable maze provides flexible, scalable, reproducible and repeatable tests", *iScience*, Volume 23, Issue 1, 2020. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.isci.2019.100787>.
2. Karube, F., Takahashi, S., Kobayashi, K., Fujiyama, F., "Motor cortex can directly drive the globus pallidus neurons in a projection neuron type-dependent manner in the rat", *eLife*, 2019.
3. Nakazono, T., Takahashi, S., Sakurai, Y., "Enhanced theta and high-gamma coupling during late stage of rule switching task in rat hippocampus", *Neuroscience*, 412:216-232, 2019.
4. Song, K., Takahashi, S., Sakurai, Y., "Reinforcement schedules differentially affect learning in neuronal operant conditioning in rats", *Neuroscience Research*, S0168-0102(19)30138-5. doi: 10.1016/j.neures.2019.04.003. 2019.
5. Mizutani, K., Takahashi, S., Okamoto, S., Karube, Y., Fujiyama, F., "Substance P effects exclusively on prototypic neurons in mouse globus pallidus", *Brain Structure and Function*, 2017.
6. Ishino, S., Takahashi, S., Ogawa, M., Sakurai, Y., "Hippocampal-prefrontal theta phase synchrony in planning of multi-step actions based on memory retrieval", *European Journal of Neuroscience*, 2017.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 6件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Takahashi Susumu	4. 巻 21
2. 論文標題 The Hippocampal Ensemble Code for Spatial Navigation and Episodic Memory	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Advances in Neurobiology	6. 最初と最後の頁 49 ~ 70
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1007/978-3-319-94593-4_3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ishino Seiya, Takahashi Susumu, Ogawa Masaaki, Sakurai Yoshio	4. 巻 45
2. 論文標題 Hippocampal-prefrontal theta phase synchrony in planning of multi-step actions based on memory retrieval	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 European Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1313 ~ 1324
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ejn.13547	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Mizutani Kazuko, Takahashi Susumu, Okamoto Shinichiro, Karube Fuyuki, Fujiyama Fumino	4. 巻 222
2. 論文標題 Substance P effects exclusively on prototypic neurons in mouse globus pallidus	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Brain structure and function	6. 最初と最後の頁 4089 ~ 4110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00429-017-1453-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 高橋晋, 増田明, 井出薫	4. 巻 71
2. 論文標題 場所記憶の想起によるナビゲーション	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 生物の科学 遺伝	6. 最初と最後の頁 539-544
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 高橋晋, 井出薫	4. 巻 35
2. 論文標題 脳内ナビゲーション・システム 海馬の場所細胞	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 日本ロボット学会誌	6. 最初と最後の頁 43-47
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Oh, Y.M., Karube, Y., Takahashi, S., Kobayashi, K., Takada M., Uchigashima, M., Watanabe, M., Nishizawa, K., Kobayashi, K., Fujiyama, F	4. 巻 222(5)
2. 論文標題 Using a novel PV-Cre rat model to characterize pallidonigral cells and their terminations	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Brain Structure and Function	6. 最初と最後の頁 2359-2378
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi:10.1007/s00429-016-1346-2	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 Mochizuki, Y., Takahashi, S., Richmond, B.J, Shinomoto, S. 他50名	4. 巻 36
2. 論文標題 Similarity in Neuronal Firing Regimes across Mammalian Species	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 5736-5747
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi:10.1523/JNEUROSCI.0230-16.2016	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 該当する

1. 著者名 藤山文乃、高橋晋、苅部冬紀	4. 巻 35
2. 論文標題 大脳基底核の機能と構造	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Clinical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 268-270
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishino, S., Takahashi, S., Ogawa, M., Sakurai, Y.	4. 巻 45
2. 論文標題 Hippocampal-prefrontal theta phase synchrony in planning of multi-step actions based on memory retrieval	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 European Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1313-1324
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) DOI: 10.1111/ejn.13547	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 高橋晋、井出薫	4. 巻 35
2. 論文標題 脳内ナビゲーション・システム 海馬の場所細胞	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 日本ロボット学会誌	6. 最初と最後の頁 43-47
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計24件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 10件)

1. 発表者名 星野 諭、井出 薫、高橋 晋
2. 発表標題 空間ナビゲーションのための再構成迷路システム
3. 学会等名 第62回システム制御情報学会研究発表講演会 (SCI ' 18)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井出 薫、小林 憲太、苅部 冬紀、藤山 文乃、高橋 晋
2. 発表標題 行動中マウスの運動皮質におけるパルプアルブミン発現インターニューロンの発火操作
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高橋 晋、松本 祥子、井出 薫、依田 憲
2. 発表標題 自由行動中の海鳥脳からの神経活動記録
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 星野 諭、井出 薫、高橋 晋
2. 発表標題 多種の迷路を構成可能な小動物用の新規迷路システムの開発
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高橋 晋
2. 発表標題 空間ナビゲーションに関する海馬の場所細胞研究とその未来
3. 学会等名 第66回日本生態学会大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Akira Masuda, Susumu Takahashi
2. 発表標題 Precisely patterned optogenetic stimulation with mini-LED array and lens optics in rodent visual cortex
3. 学会等名 Brain Stimulation (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井出 薫、小林 憲太、苅部 冬紀、尾原 和也、前川 卓也、藤山 文乃、高橋 晋
2. 発表標題 Optogenetic intervention to parvalbumin-expressing interneurons in the motor cortex of behaving mice
3. 学会等名 International Symposium on Systems Science of Bio-Navigation 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 星野 諭、井出 薫、高橋 晋
2. 発表標題 The reconfigurable maze enables various tests to study neural mechanisms of spatial navigation
3. 学会等名 International Symposium on Systems Science of Bio-Navigation 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 星野 諭、井出 薫、高橋 晋
2. 発表標題 Development of the Reconfigurable maze-various shapes of maze in a single environment
3. 学会等名 Society for Neuroscience 2018 meetings(SfN2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高橋 晋、星野 諭、井出 薫
2. 発表標題 The Next Phase for Tracking and Predicting the Navigational Behavior Using Machine Learning
3. 学会等名 International Workshop on Behavior analysis and Recognition for knowledge Discovery (BiRD 2019) in conjunction with the IEEE International Conference on Pervasive Computing and Communications (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Susumu Takahashi
2. 発表標題 Neural activity in the brain of rats, seabirds and salmonid fish during spatial navigation
3. 学会等名 International Symposium on Systems Science of Bio-Navigation 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takahashi, S.
2. 発表標題 Memory of places in rats
3. 学会等名 IEEE ICMA 2017 Conference, Tutorial Workshops on Systems Science of Bio-navigation (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 星野諭、井出薫、高橋晋
2. 発表標題 再構成可能迷路の開発
3. 学会等名 第95回日本生理学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takahashi, S.
2. 発表標題 Place sequence recognition and processing in the hippocampal place cell activity
3. 学会等名 第40回日本神経科学大会 (幕張)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 高橋晋, 小林 憲太, 苅部 冬紀, 藤山 文乃
2. 発表標題 パーキンソン病モデルマウスの一次運動野における光遺伝学を活用した神経細胞活動の操作
3. 学会等名 第39回日本神経科学大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 呉 胤美, 苅部 冬紀, 高橋晋, 小林 憲太, 高田 昌彦, 小林 和人, 藤山 文乃
2. 発表標題 淡蒼球外節から黒質緻密部ドーパミンニューロンへの抑制性入力を解明する
3. 学会等名 第39回日本神経科学大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 高橋 裕美, 廣川 純也, 高橋晋, 櫻井 芳雄
2. 発表標題 報酬確率学習課題中の海馬における神経表象
3. 学会等名 第39回日本神経科学大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 水谷 和子, 苅部 冬紀, 高橋晋, 小林 憲太, 藤山 文乃
2. 発表標題 マウス淡蒼球外節におけるNeurokinin-1受容体陽性細胞の形態学的・電気生理学的性質を解明する
3. 学会等名 第39回日本神経科学大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 町野友理, 高橋晋, 櫻井芳雄
2. 発表標題 ラットの海馬・前頭前野における再学習中の神経機構
3. 学会等名 第39回日本神経科学大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 宋 基燦, 高橋晋, 櫻井芳雄
2. 発表標題 ラット皮質における随意的発火調節のニューロン集団間での転移
3. 学会等名 第39回日本神経科学大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Nakazono, T., Takahashi, S., Sakurai, Y.
2. 発表標題 Learning stages in a rule switching task affects theta-gamma couplings in rat hippocampus
3. 学会等名 Society for Neuroscience meeting (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Song, K., Takahashi, S., Sakurai, Y.
2. 発表標題 Volitional modulation of neuronal activities among multiple neuron groups via neuronal operant conditioning
3. 学会等名 Society for Neuroscience meeting (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Machino, Y., Takahashi, S., Sakurai, Y.
2. 発表標題 Hippocampal-prefrontal interaction during original task learning and relearning
3. 学会等名 Society for Neuroscience meeting (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 呉 胤美, 苅部 冬紀, 高橋晋, 小林 憲太, 高田 昌彦, 小林 和人, 藤山 文乃
2. 発表標題 sing a novel PV-cre rat model to characterize pallidonigral cells and terminations
3. 学会等名 第122回 日本解剖学会 総会・全国学術集会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 小動物実験用迷路組立キット	発明者 高橋晋	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2017-252076	出願年 2017年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----