

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 8 日現在

機関番号：34310
研究種目：基盤研究(B) (一般)
研究期間：2012～2015
課題番号：24300148
研究課題名(和文) 単一ニューロンから領野まで統合的に解析する全脳記録法の開発

研究課題名(英文) Development of whole brain recording system

研究代表者
高橋 晋 (Takahashi, Susumu)

同志社大学・研究開発推進機構・准教授

研究者番号：20510960

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、神経細胞活動と脳波を安定的に同時記録する全脳記録法を確立した。具体的には、脳深部にアクセスするため、3Dプリンタを活用し、動物でのテスト実験を繰り返すことで、脳深部マルチニューロン活動・局所脳波記録用電極を頭部固定し、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。本研究において開発した記録法の性能を評価したところ、動物が歩行している際の神経細胞の活動パターンが、立ち止まっている際には約10倍速の早送りモードで再現されていることを解明することができた。この結果は、本研究において開発した技術の性能が、動物が将来に行う動きを予測できるほど高性能であることを示している。

研究成果の概要(英文)：We developed a whole brain recording system which can simultaneously record neuronal activity and EEG over several brain regions. Specifically, using 3D printing technology, we tested the performance of the developed system in a rapid prototyping fashion. Consequently, we made an independently movable microdrive which can access not only deep brain areas but also superficial of the cortex. To evaluate the performance of the system, we recorded place-cell activity while the animal paused. Results suggested that the sequential activation of place-cells are replayed about 10 times faster than that during running. We conclude that our developed system can record both neuronal activity and EEG over several brain regions.

研究分野：脳計測学

キーワード：全脳記録

1. 研究開始当初の背景

情報処理を担う神経回路網の動態に関しては、脳の一部を摘出した標本レベルの研究が、細胞内記録法、パッチクランプ法、2光子励起顕微鏡などを用いて、単一ニューロン内あるいはニューロン間の精緻な相互作用の分析を進めている。しかしこれらの計測・分析法を、そのまま無拘束で行動している動物の脳に用いることは困難であり、特に脳の深部からの計測に用いることは現時点では極めて難しい。また、行動している動物の脳から多数のニューロン活動を同時に計測するマルチニューロン活動記録法は、確かに脳深部の計測に用いることが出来るが、近接したニューロンがほぼ同時に活動すると波形が重なり合い判別が困難になる問題(スパイク・オーバーラップ問題)や、同じニューロンでも波形が頻繁に変動するという問題(スパイク波形の非定常問題)があり、個々のニューロンの活動を正確に分離抽出することが困難であった。更には、機能的MRIに代表される脳活動イメージング法は、確かに全脳を対象とした計測が可能であり、領野内の活動レベルや領野間の相互作用を解析できるが、BOLD信号など神経活動の間接的な指標を用いており、神経回路網の動態を見る研究にそのまま適用することはできない。このようなことから、標本レベルの研究で発見されている単一ニューロン内の活動、あるいは近接したニューロン間の精緻な相互作用と、それらを構成単位とする局所回路網の活動を、複数の領野内あるいは領野間で同時に計測し、それらが脳全体に跨り相互作用する動態を行動している動物の脳内から計測し解析することは、脳機能の全体的解明に不可欠であるが、全く不可能であった。

2. 研究の目的

本研究では、現在の脳神経科学と情報工学を協調させることにより、覚醒し行動している動物の脳全体に跨る神経回路網の動態を、単一ニューロンレベルの微視的スケールから脳全体を俯瞰する巨視的スケールまで統合的に計測し解析する全脳記録法を確立する。そして、その全脳記録法を活用することで、視覚情報処理と記憶情報処理を行っている同じラットの脳内にある複数の領野内および領野間における神経回路網の動作と相互作用を解析する。最終的に、ニューロンの形態やその集団活動パターンから脳全体に跨る脳波の相互作用までを含め、統合的に解明する。

3. 研究の方法

全脳記録法の基盤となる皮質脳波、局所脳波、マルチニューロン活動を同時記録する超小型計測器を開発する。そして、皮質脳波、局所脳波、個々のニューロン活動をリアルタイムかつ統合的に解析する手法を開発し、それらの先端技術を統合した全脳記録法を活

用することで、課題遂行しているラットの新皮質だけではなく、基底核、海馬など脳深部に跨る脳波と、その局所神経回路網の単一細胞レベルの相互作用などを行動との関係性から統合的に解明する。

4. 研究成果

(1)脳深部にある海馬や基底核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。当初計画からの記録・刺激部位変更へ迅速に対応するため、短期的にプロトタイプを作製する体制を整えた。そして、3D CAD(computer aided design)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(図1)、動物でのテスト実験を繰り返すことで、8本(総計32チャンネル:4チャンネル(Tetrode)×8)の脳深部マルチニューロン活動・局所脳波記録用電極、1本の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(図2)。総重量は3.0gと小型軽量であり、マウスなどの小型動物に装着することも可能である。

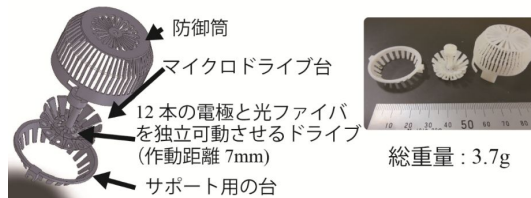


図1. 本研究開発のスタート時に設計した脳活動記録・刺激用装具の3D CADによるデザイン(左)と、3Dプリンタによる出力(右)



図2. 試作を繰り返した結果完成した脳活動記録用装具。総重量は3.0gと小型軽量であり、動物実験により、安定した神経活動記録と神経刺激を確認した。

(2)更に、複数の神経細胞活動と局所脳波を同時に記録するオフラインシステムを確立した。そして、そこから記録されたデータから、脳機能ネットワーク動態を単一ニューロンから領野レベルまで一挙に推定する手法を確立した。具体的には、フーリエ変換を活用した周波数解析により、パーキンソン病モデル動物において顕著に増加するベータ波と呼ばれる10Hzから30Hz周波数帯の脳波のパワーを検出し、その周波数帯に特異的に活動する神経細胞活動を収集する計測システムを開発した。

(3)そして、統計的解析法のベイズ推定を活用することによって、その計測されたデータから、脳内で表現されている情報を解読する手法を開発した。これらの開発手法の性能を

評価するため、脳深部の海馬において 120Hz 周波数帯に出現する特異的な脳波 鋭波 に着目し、本研究において開発した全脳記録法を活用することで、動物が特定の位置に居る時に高頻度に活動する海馬の神経細胞 場所細胞 の活動パターンを解析した。その結果、動物が歩行している際の神経細胞の活動パターンが、立ち止まっている際には約 10 倍速の早送りモードで再現されていることを解明した。そして、その早送りモードで活動する神経細胞活動から、動物が将来に移動する軌跡を、動き出す数百ミリ秒前から解読することができた(図3)。この結果は、本研究において開発した全脳記録法の性能が、動物が将来に行う動きを予測できるほど高性能であることを示している。

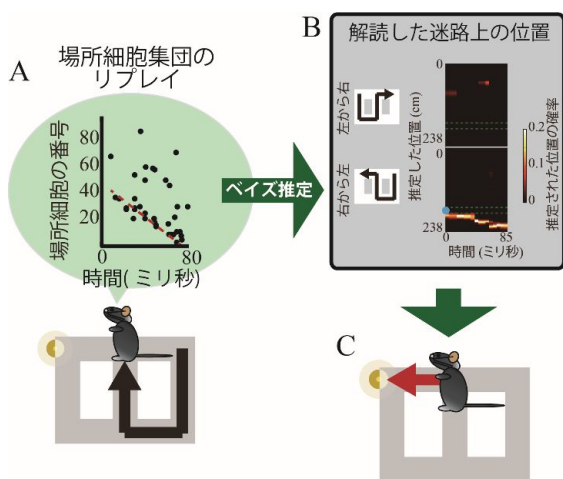


図3．海馬の場所細胞の再活性化(リプレイ)から移動軌跡を解読

A. 迷路上において、ラットは迷路課題を遂行している(下のイラスト)。ラットが立ち止まると、海馬から記録した約百個の場所細胞は、高頻度に活動する。緑丸内に示すプロットにおいて、一つの点は場所細胞が一度活動したことに対応する。場所細胞はデタラメに活動するわけではなく、順番に活動しており(赤点線)リプレイと呼ばれる。B. 本研究において開発した手法を用いて、場所細胞活動のリプレイを解読した結果を示している。上部は、左からスタートし右へゴールする場合であり、下部は右からスタートし左へゴールする場合である。黒から白に近づくにつれて確率が高くなる(右カラーバー)。青丸は、ラットが立ち止まり、リプレイが発生した位置を示す。C. Bに示した位置確率から解読した移動軌跡(赤矢印)を迷路上に描いた模式図。リプレイが描く移動軌跡は、ラットが実際に移動する前に、静止位置からゴール(黄色丸)へ向かう。この結果は、本開発手法を活用することで、動物が将来に行う移動行動を予測できることを示している。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 12 件)

高橋 晋, (2016) . 海馬にある場所細胞群の活動から意図した移動行動を解読する. *Clinical Neuroscience*, 34(2):164-167 (査読無)

Takahashi, S., (2015) Episodic-like memory trace in awake replay of hippocampal place cell activity sequences, *eLife*, 4: e08105. (査読有) DOI:10.7554/eLife.08105

Nakazono, T., Sano, T., Takahashi, S., and Sakurai, Y., (2015) Theta oscillation and neuronal activity in rat hippocampus are involved in temporal discrimination of time in seconds, *Frontiers in Systems Neuroscience*, 9:95. (査読有) DOI:10.3389/fnsys.2015.00095

高橋 晋, 藤山文乃, (2015) 大脳基底核を巡る伝導路. *Clinical Neuroscience*, 33(7):767-771. (査読無)

Fujiyama, F., Takahashi, S., Karube, F. (2015) Morphological elucidation of basal ganglia circuits contributing reward prediction. *Frontiers in Neuroscience*, 9:6. (査読有) DOI:10.3389/fnins.2015.00006

高橋 晋, (2014) 脳内ナビゲーション・システム 場所細胞と格子細胞の発見, *現代化学*, 525, 22-26. (査読無)

Sakurai, Y., Song, K., Tachibana, S., Takahashi, S., (2014) Volitional enhancement of firing synchrony and oscillation by neuronal operant conditioning: interaction with neurorehabilitation and brain-machine interface. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 2014, 8:11, pp.1-11. (査読有) DOI:10.3389/fnsys.2014.00011

Terada S., Takahashi S., and Sakurai Y., (2013) Oscillatory interaction between amygdala and hippocampus coordinates behavioral modulation based on reward expectation. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 7:177, pp.1-12. (査読有) DOI: 10.3389/fnbeh.2013.00177

Takahashi, S., (2013) Exploring the neural substrate for supporting episodic memory in the hippocampus from a place cell perspective, *Japanese Psychological Review*, Vol.56, No.2, pp.186-200. (査読有)

Takahashi, S., (2013) Hierarchical organization of context in the hippocampal episodic code, *eLife*, 2: e00321, (査読有) DOI:10.7554/eLife.00321

Sakurai, Y., Nakazono, T., Ishino, S.,

Terada, S., Yamaguchi, K., Takahashi, S. (2013) Diverse synchrony of firing reflects diverse cell-assembly coding in the prefrontal cortex., *Journal of Physiol. (Paris)*, Vol.107, pp.459-470. (査 読 有) DOI:10.1016/j.jphysparis.2013.05.004

〔学会発表〕(計 17 件)

Song, K., Takahashi, S., Sakurai Y., “Transfer of operantly conditioned firings between different neuron groups with BMI in rats”, *Society for Neuroscience meeting* (Chicago, USA) (2015年10月21日)

高橋晋、“海馬場所細胞群の活動リプレイは記憶に基づくナビゲーション計画を表現する”,第38回日本神経科学大会,神戸国際会議場(兵庫県・神戸市)(2015年7月30日)

中園智晶、高橋晋、櫻井芳雄“ルール学習中のラット海馬におけるシータガンマ・カップリングはガンマ波のタイプによって異なる”,第38回日本神経科学大会,神戸国際会議場(兵庫県・神戸市)(2015年7月30日)

中園智晶、高橋晋、櫻井芳雄“ルールスイッチングにおけるラット海馬のシータ・ガンマカップリング”,第24回海馬と高次脳機能学会,岐阜大学(岐阜県・岐阜市)(2015年10月11日)

Yamaguchi, K., Takahashi, S. and Sakurai, Y., (2014). Timed pauses of simple spikes and up-and-down patterns of deep cerebellar nucleus activity code cerebellar temporal processing during voluntary movement tasks, *Society for Neuroscience meeting*, Washington, DC (USA), (November 18, 2014).

Ishino, S., Takahashi, S. and Sakurai, Y., (2014). Hippocampal-prefrontal coordination is involved in recall of learned sequences in rats, *Society for Neuroscience meeting*, Washington, DC (USA), (November 19, 2013).

高橋 晋 (2014). パーキンソン病症状を改善する閉回路式脳深部刺激法の開発に向けた試み,第37回日本神経科学大会,パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市), (2014年9月12日).

立花 湘太、高橋 晋、櫻井 芳雄(2014). 衝動性の制御における内側前頭皮質の機能と可塑性を解明するためのブレインマシン・インターフェイス,第37回日本神経科学大会,パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市), (2014年9月13日).

宋 基燦、高橋 晋、櫻井 芳雄(2014). ラ

ット皮質におけるオペラント条件づけした発火のニューロン集団間での転移,第37回日本神経科学大会,パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市), (2014年9月12日).

石野 誠也、高橋 晋、櫻井 芳雄 (2014) 学習した系列の想起に関連する海馬-前頭連合野ネットワークの協調的活動,第37回日本神経科学大会,パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市), (2014年9月12日).

中園 智晶、高橋 晋、櫻井 芳雄 (2014). ラット海馬シータオシレーションは時間間隔弁別に関与する. 第37回日本神経科学大会,パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市), (2014年9月11日).

Nakazono, T, Takahashi, S. and Sakurai, Y., (2013). Rule switching affects theta-gamma coupling in rat hippocampus, *Society for Neuroscience meeting*, San Diego, California (USA), (November 13, 2013).

高橋 晋 (2013). 海馬は文脈情報を階層化してエピソードを形成する,第36回日本神経科学大会,国立京都国際会館(京都府京都市), (2013年6月21日).

藤山 文乃、中野 隆、松田 和郎、呉 胤美、水谷 和子、古田 隆寛、苅部 冬紀、高橋 晋、雲財 知、宇田川 潤、金子 武嗣 (2013). ラット淡蒼球外節の投射様式を領域ごとに解析する,第36回日本神経科学大会,国立京都国際会館(京都府京都市), (2013年6月20日).

水谷 和子、苅部 冬紀、高橋 晋、雲財 知、藤山 文乃(2013). ラット淡蒼球外節と直接路・間接路との関係を形態学的に解析する,第36回日本神経科学大会,国立京都国際会館(京都府京都市), (2013年6月20日).

山口 健治、高橋 晋、櫻井 芳雄(2013). ラットのリズムに基づく行動中または時間間隔に基づく行動中に見られる小脳活動,第36回日本神経科学大会,国立京都国際会館(京都府京都市), (2013年6月20日).

寺田 慧、高橋 晋、櫻井 芳雄 (2013). 海馬と扁桃体間のガンマオシレーションの同期は報酬予測による行動調節に寄与する,第36回日本神経科学大会,国立京都国際会館(京都府京都市), (2013年6月20日).

〔産業財産権〕

取得状況(計1件)

名称: 生体装着用電極

発明者: 高橋晋

権利者: 同志社大学

種類: 特許

番号: 5771437

取得年月日: 2015年7月3日

国内外の別：国内

6．研究組織

(1)研究代表者

高橋 晋 (TAKAHASHI, Susumu)
同志社大学・研究開発推進機構・准教授
研究者番号：20510960

(2)研究分担者

藤山 文乃 (FUJIYAMA, Fumino)
同志社大学・大学院脳科学研究科・教授
研究者番号：20244022

(3)連携研究者

櫻井 芳雄 (SAKURAI, Yoshio)
同志社大学・大学院脳科学研究科・教授
研究者番号：60153962