

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 18 日現在

機関番号：63904

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26830021

研究課題名(和文) 単一細胞オペラント条件付けを実現する報酬依存的シナプス構造可塑性の解明

研究課題名(英文) Reward dependent synaptic plasticity during single neuron operant conditioning

研究代表者

平 理一郎 (Hira, Riichiro)

基礎生物学研究所・光脳回路研究部門・助教

研究者番号：80712299

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、2光子カルシウムイメージングで得た画像をリアルタイムに解析し、フィードバックする方法の開発、光遺伝学的刺激と2光子イメージングを同時に行う実験系の開発を含む技術開発が実を結び、単一細胞オペラント条件付けの学習機構を調べることに成功した。その結果、ブレインマシンインターフェースの学習機構の少なくとも一部を担うと考えられる、報酬と細胞活動のタイミングに依存した、大脳皮質神経細胞の双方向の活動調整機構を見出した。

研究成果の概要(英文)：In this study, we developed several new methods including a real time analysis system of images obtained by two photon calcium imaging of cortical neurons and an experimental system that allowed us to simultaneously conduct two photon imaging and the optogenetic stimulation. We found that the reward timing dependent bidirectional modulation (RTBM) of cortical neurons during the learning of the single neuron operant conditioning. The RTBM might be one of the key mechanism that enables animal to learn to use brain machine interface.

研究分野：神経科学

キーワード：ブレインマシンインターフェース 2光子イメージング 光遺伝学

1. 研究開始当初の背景

(1) 随意的な運動は、大脳皮質の最終出力である運動野によって構成され、実際に運動野の神経活動は脊髄経由で筋肉収縮として身体運動へと変換される。一方、我々が随意的に動かすことができるのは身体だけではない。開発が進んでいるブレインマシンインターフェースによって、ヒトおよび霊長類、齧歯類は、随意的に外部機器を動かすことが可能である。この技術は、運動野の活動をリアルタイムに外部機器の操作に接続することによって可能となる。ブレインマシンインターフェースの研究は、随意性とは何かという基礎神経科学の重要な問いに対して非常に重要な知見を生み出す可能性があると同時に、大脳運動野の機能不全によってスムーズな随意運動に障害がある患者に対する治療法の開発に繋がる可能性がある点でもさらなる研究が喫緊の課題となっている。ブレインマシンインターフェースは技術的には様々な発展形がすでに実現されている一方、その学習機構には不明な点が多い。

(2) 単一神経細胞活動を記録する方法は従来電気生理学的記録法が最もよく使用されていた。しかし近年2光子カルシウムイメージングの開発によって、生きた動物の神経細胞活動を光学的に記録できるようになってきた。この方法が電気生理学的方法より優れている点の一つは、細胞を非常に密に計測できる点である。神経細胞活動は非常に近接している細胞活動との相関が高く、密な記録によって細胞活動の協調的な性質を拾い出せると考えられる。

2. 研究の目的

(1) ブレインマシンインターフェースの学習機構の解明を目的とする。特に、最も単純なブレインマシンインターフェースである、単一細胞の活動によって報酬を得ることができる、単一細胞オペラント条件付けがどのように実現するか、という点に焦点を絞る。単一細胞の神経活動が随意的に上昇し、報酬を多くもらうようになってきたとき、ターゲットの神経細胞以外の周辺の細胞の活動は如何なる活動変化を示すだろうか。さらにその活動変化は神経回路のどのような学習を反映したもので、その学習はシナプス可塑性を伴うだろうか。そうした点を解明するのが本研究の目的である。

(2) 大脳運動野の神経細胞は、通常の文脈では自然界において必要な運動出力を構成しているはずである。本研究では、人工的な出力構成となるブレインマシンインターフェースの研究と並行して、大脳運動野の運動表象、とくに動物行動学的に意味のある運動表象に関しても研究を行う。これによって、

随意的な神経細胞活動の構成における細胞単位のミクロスコピックな現象と、よりマクロな運動表象の基盤的知見の両者を探求することが可能となる。

3. 研究の方法

(1) ターゲットとする神経細胞と、その周辺に存在してターゲットの神経細胞の活動と密接に関連していると思われる神経細胞をできるだけ多数記録することができる系が、上記の目的のために必要である。多細胞活動の記録のために、本研究では2光子カルシウムイメージングを用いる。研究代表者はin vivo 2光子カルシウムイメージングを頭部固定マウスに適用し、運動野の神経細胞を記録してきた。これによって数十の神経細胞活動の可視化が可能である。さらに、2光子カルシウムイメージングで観測した神経細胞活動によってリアルタイムに報酬を与えるシステムを構築する(図1)。単一細胞オペラント条件付けによってターゲット細胞の活動が上昇することを確認後、それに伴う周辺の細胞活動の変化を様々な観点から解析する。

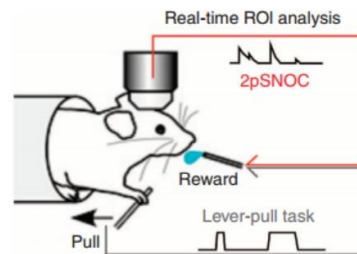


図1 2pSONC(two photon single neuron operant conditioning)と、レバー引き課題の概略図。マウスはレバーを引くと報酬を獲得することができる課題(通常オペラント課題)を習得したのちに、単一細胞オペラント条件付け課題へと移行する(Hira et al., Nat Commun 2015より)。

(2) 光遺伝学を使用して、大脳運動野の一点一点を刺激し、その運動出力を調べる。特に前肢の運動を定量的に解析するために、前肢運動を3次元空間上で高速にトラッキングすることにより、誘導された運動のダイナミックな性質を解析対象とする。

4. 研究成果

(1) 2光子カルシウムイメージングで得た画像をリアルタイムに出力に変換する方法の開発に成功した。ターゲット細胞は条件付けから15分程度で有意な活動の上昇を示した(図2)。

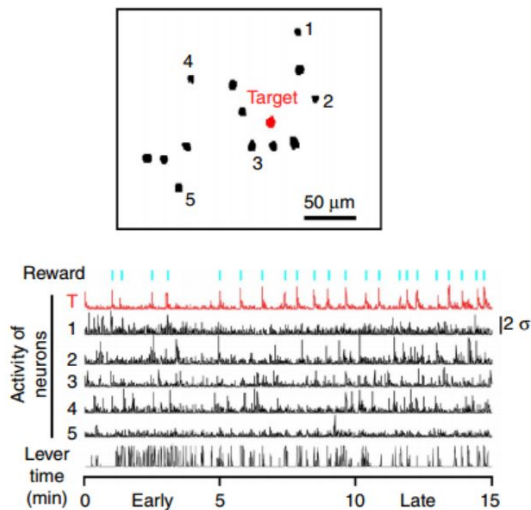


図2 上段、ターゲット細胞（赤）と周辺の細胞の位置。下段、ターゲット細胞と上段にて番号を付した周辺の細胞の、単一細胞オペラント条件付け期間の活動。水色は報酬を示す。ターゲット細胞活動が顕著に上昇するのに対し、周辺の細胞活動は活動変化の方向が一定でなく、ゆらいでいることがわかる (Hira et al., Nat Commun 2015 より)。

(2) ターゲット細胞の周辺の細胞活動を記録し、ターゲット細胞の活動が上昇した際に、その周辺の細胞活動の変化を調べた。これによって、ターゲット以外の細胞活動でも、その神経細胞活動と報酬を得た時間的前後関係によってその後に神経活動の変化が双方向に生じていることが明らかになった (図3)。この現象を報酬タイミング依存的双方向活動調整と命名した。

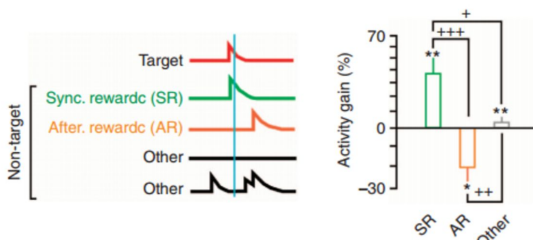


図3 左、SR細胞（報酬に同期した活動を示す細胞）とAR細胞（報酬の直後に活動を示す細胞）の概略図。水色の線は報酬タイミングを示す。右、15分間の単一細胞オペラント条件付け時にSR細胞は活動を上昇させ、AR細胞は活動を低下させる (Hira et al., Nat Commun 2015 より)。

(3) 予想に反して、ターゲット細胞の活動上昇がみられたさいにも、その周辺の細胞活動に有意な活動上昇はみられなかった。

(4) 報酬タイミング依存的双方向活動調整は、個々の神経細胞活動と報酬のタイミング

のみによって生じる現象であろうか。または、それは単一細胞オペラント条件付けに存在する可能性のある様々なそれ以外の要因によって生じる現象だろうか。この点を明らかにするために、神経細胞を人工的に刺激し、その直後あるいは直前に報酬を与えることで自発発火活動が調整されるかどうかを調べた。その結果、刺激された細胞活動は、報酬を与えるタイミングに依存して、やはり双方向に変化した。このことは、個々の細胞活動と報酬の時間タイミングのみが、当該の細胞の自発活動の変化の方向を決めていることを示す。このように、随意的な神経活動の活動変化、すなわちブレインマシーンインターフェースの学習の一部は、個々の神経細胞の発火タイミングと報酬を与えられたタイミングによって決定していると考えられる。

(5) 光感受性のイオンチャンネル ChR2 を導入した遺伝子導入マウスを用い、光刺激の周波数や長さを変えることで、様々な複雑な運動パターンの生成に成功した。前肢の運動パターンを詳細に解析したところ、リズムカルな運動を誘発できる領域と、始点から終点までが直線状の運動を誘発できる領域が見つかり、前者が後者の領域に挟まれるサンドイッチ構造となっていることがわかった (図4)。

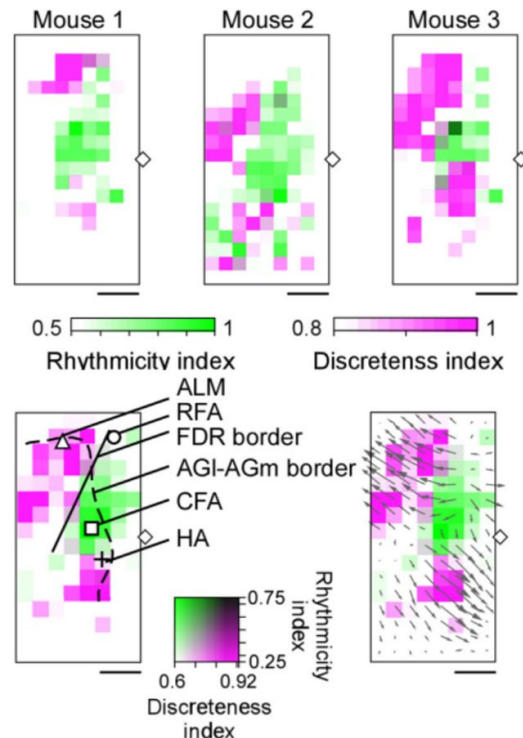


図4、上段、リズム性運動インデックスと離散性運動インデックスのカラーマップ。菱形はブレグマ、スケールバーは1mm。3匹のマウスのマップを例示。下段左、全マウスの平均マップ。マップ上には重要な解剖学的位置を重ねている。下段右、平均マップと運動方向ベクトルを重ねて提示 (Hira et al., J.

Neurosci 2015 より一部を抜粋)。

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 2 件)

[1] Hira, R., Terada, S. I., Kondo, M., & Matsuzaki, M. Distinct Functional Modules for Discrete and Rhythmic Forelimb Movements in the Mouse Motor Cortex. The Journal of Neuroscience, 35(39), 13311-22. 2015 査読あり

[2] Hira, R., Ohkubo, F., Masamizu, Y., Ohkura, M., Nakai, J., Okada, T., & Matsuzaki, M. Reward-timing-dependent bidirectional modulation of cortical microcircuits during optical single-neuron operant conditioning. Nature Communications 5:5551. 2014 査読あり

[学会発表](計 3 件)

[1] R Hira & M. Matsuzaki, "Complex movements induced by prolonged transcranial optogenetic stimulation of the mouse motor cortex" Wed, Nov. 19, 2014 Society for neuroscience, Washington DC

[2] R. Hira, F. Ohkubo, Y. Masamizu, M. Ohkura, J. Nakai, T. Okada, M. Matsuzaki, "SINGLE-NEURON OPERANT CONDITIONING BY TWO-PHOTON IMAGING INDUCES REWARD-TIMING-DEPENDENT BIDIRECTIONAL MODULATIONS IN CORTICAL MICROCIRCUIT" F08, 2014 FENS (Federation of European Neurosciences), presentation on July 6, 2014, Rome (Italy)

[3] R. Hira, F. Ohkubo, Y. Masamizu, M. Ohkura, J. Nakai, T. Okada, M. Matsuzaki, "Reward-timing dependent bidirectional modulation of spontaneous activity during single-cell operant conditioning with two-photon calcium imaging" Mar 17, 2014,

The 91st Annual Meeting of the Physiology Society of Japan, パシフィコ横浜 (横浜)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者
平 理一郎 (Hira, Riichiro)
基礎生物学研究所 光脳回路研究部門 助教

研究者番号：80712299

(2)研究分担者
なし

(3)連携研究者
なし