

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 27 日現在

機関番号：32639

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2009～2013

課題番号：21120006

研究課題名(和文)異なる入力情報の相互作用による自己組織化メカニズムの解明

研究課題名(英文) Mechanism of self-organization induced by the interaction of different inputs

研究代表者

相原 威 (Aihara, Takeshi)

玉川大学・工学部・教授

研究者番号：70192838

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 51,400,000円、(間接経費) 15,420,000円

研究成果の概要(和文)：脳内の外界モデル形成には、外界からのボトムアップ(感覚)情報だけでなく、注意や情動などによる広範囲調節系と呼ばれる内因性の情報も融合する必要がある。海馬や皮質などの神経回路への調節系の信号は、集中時などに内在性アセチルコリン(Ach)として放出され、記憶に関与するとの報告がある。そこで、本研究はボトムアップ入力の統合に対するAChによる修飾を細胞およびネットワークレベルの実験により検証を行った

研究成果の概要(英文)：For establish an internal model of external world, it is necessary to integrate not only the bottom-up (sensory) information from an external world but the endogenous information called diffuse modulatory systems, attention and emotion, etc. One of signal from diffuse modulation systems to neural circuits, such as a hippocampus and a cortical substance, is intrinsic acetylcholine during a concentration, which is related to memory. In this work, the influence of acetylcholine on the integration of a bottom-up input in cells or cortical neural networks was investigated.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：情報学・感性情報学・ソフトコンピューティング

キーワード：自己組織化 広範囲調節系 アセチルコリン ボトムアップ情報 恐怖条件付け学習 海馬 聴覚皮質

## 1. 研究開始当初の背景

脳は外界のモデルを個体の目的に合わせて脳内に再構成し、しかもその状態を操作することができる。この操作が新しい知識を生み出す情報創成の根源である。このような脳内モデルの形成には外界からのボトムアップの情報だけでなく、トップダウンの情報も融合する必要がある。従来の研究によってボトムアップ情報だけに依存した外界モデルの形成メカニズムは実験的にも理論的にも徐々に明らかになりつつあるが、情報創成の視点から見たトップダウン機能を実現するメカニズムに関する研究はほとんどない。本研究では、まずトップダウンの作用として、情動や集中時に関連する広範囲調節系（特にアセチルコリン）による感覚情報（ボトムアップ情報）統合への修飾に注目し、個体の目的に合わせた脳内モデルの自己組織化を可能にするメカニズムを探る。またそうした情動的情報は、個体間のコミュニケーションで重要な情報と直結しており、脳内モデルの自己組織化に与えるコミュニケーションの影響として捉えることができる。ボトムアップとトップダウンというヘテロな系の相互作用ダイナミクスを実験と理論の両側面から明らかにすることで、コミュニケーションの脳内神経機構を探る糸口としていく。具体的には、本研究はボトムアップ情報とトップダウン情報の相互作用によって自己組織化する神経回路を実験的に調べ、そのモデル構築と理論解析を通じて、その自己組織化原理を探る。本研究で行った生理実験は以下の2点である。

- (1) 細胞レベルのトップダウンとボトムアップの相互作用
- (2) ネットワークレベルのトップダウンとボトムアップの相互作用

## 2. 研究の目的

### (1) 細胞レベルのトップダウン情報とボトムアップ情報の相互作用

本研究は、記憶に関する海馬神経回路のCA1野におけるトップダウン入力（集中や随意行動時の注意などにより脳内に広範囲にわたって放出される内因性アセチルコリン）がボトムアップ（感覚入力）情報の統合に与える影響を解明することを目的とし、アセチルコリン放出時のスパイクタイミング依存性可塑性（STDP; Spike-timing dependent synaptic plasticity）をげっ歯類海馬により調べた。

### (2) ネットワークレベルのトップダウン情報とボトムアップ情報の相互作用

はじめに、「モルモット聴覚野におけるボトムアップ・トップダウン情報の相互作用」を調べた。すなわち、モルモットの聴覚皮質において、聴覚によるボトムアップ情報と恐

怖条件付けによる情動系のトップダウン情報がいかに相互作用するかを調べることを目的とした。さらに、聴覚刺激と両足電気刺激に加え視覚刺激による2次条件付けを行い、各皮質間の情報の連合を調べ、ネットワークレベルの情報統合を光計測法により明らかにした。

## 3. 研究の方法

### (1) 細胞レベルのトップダウン情報とボトムアップ情報の相互作用

(海馬 CA1 野におけるスパイクタイミング依存可塑性へのアセチルコリン効果)

<実験方法> (図1参照)

2~3週齢のWister Rat から抽出した海馬を厚さ 400 μm にスライスし、ACSF 溶液で1時間程度休ませた後、チェンバーに設置する。パッチクランプ法により CA1 領域 Pyramidal 層の細胞体にパッチ電極を挿入し、細胞内電位変化の記録とともに発火誘導する刺激を可能にする。また、EPSP を観測するために電気刺激用電極を Schaffer 側枝に挿入する。さらに、コリン作動性ニューロンを刺激し内在性アセチルコリンを放出させるため Oriens 層に電気刺激用電極を挿入する。刺激パターンは、Schaffer 側枝での EPSP 刺激に続くパッチ電極による発火刺激とのペアリングタイミングを  $t=12\text{msec}$  として 5Hz で 16 秒間刺激を行う (STDP 誘起のプロトコル)。ペアリング刺激注入から 10 秒後にトップダウン入力として Oriens 層へ 40Hz を 0.5sec 間刺の刺激を行い、slow EPSP が観測できる状態にする。そしてこれら一連の刺激を入力する前 10 分間と後 30 分間をコントロール刺激 (20 秒間隔) による EPSP 応答の傾斜で比較し、変化率を算出する。

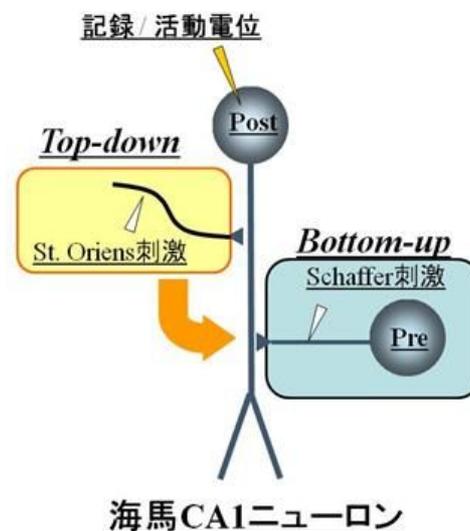


図1 実験方法 1 (細胞レベル)

**(2) ネットワークレベルのトップダウン情報とボトムアップ情報の相互作用**  
(恐怖条件づけにより聴覚野に生じる異なる感覚モダリティの統合)

<実験方法> (図2、図3参照)

モルモットに対して条件刺激 (Conditioned Stimulus, CS) に純音、無条件刺激 (Unconditioned Stimulus, US) に両足への電気刺激を用いる恐怖反応条件付けを行った (図2)。この恐怖条件付けにより聴覚野に生じる可塑的な変化について光計測法を用いた2つの実験により調べた。まず、純音と両足電気刺激による連合学習を行う前後で、条件付けに用いたCS音 (12 kHz) と条件付けに用いていない Non-CS 音 (4, 8, 16 kHz) に対する聴覚野の応答変化について調べた。その結果、CS音を提示した場合に限り、条件付け後に応答領域の増大が確認された。一方、音刺激ではなく、両足への電気刺激によっても、連合学習した音に関する情報が想起されるのではないかという観点から、音刺激を提示せず両足電気刺激だけを与えた場合の聴覚野応答を調べた。さらに聴覚刺激と両足電気刺激に加え視覚刺激による2次条件付けを行ない、条件付け学習による皮質間ネットワークの連合を調べる実験を行った (図3)。

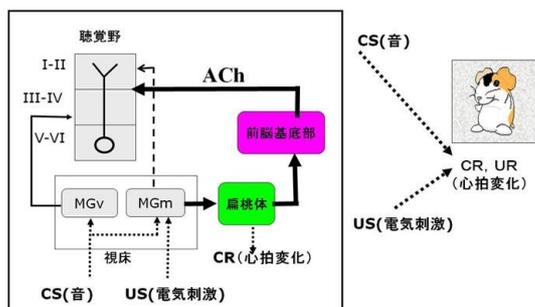


図2 実験方法2 (ネットワークレベル)

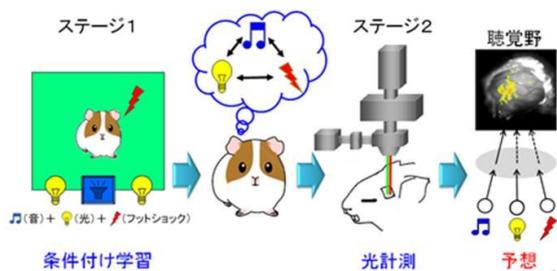


図3 実験方法3 (ネットワークレベル)

**4. 研究成果**

**(1) 細胞レベルのトップダウン情報とボトムアップ情報の相互作用**  
(海馬 CA1 野におけるスパイクタイミング依存可塑性へのアセチルコリン効果)

<結果と考察> (図4参照)

コリン作動性ニューロンへの刺激によるアセチルコリン放出が与える STDP への影響を調べた。結果として、長期増強 (LTP; Long term potentiation) が促進され、長期抑圧 (LTD; Long term depression) の誘発は妨げられることを明らかにした。よって海馬 CA1 領域でトップダウン情報はボトムアップ情報と統合され、効果的に作用することが示唆された。

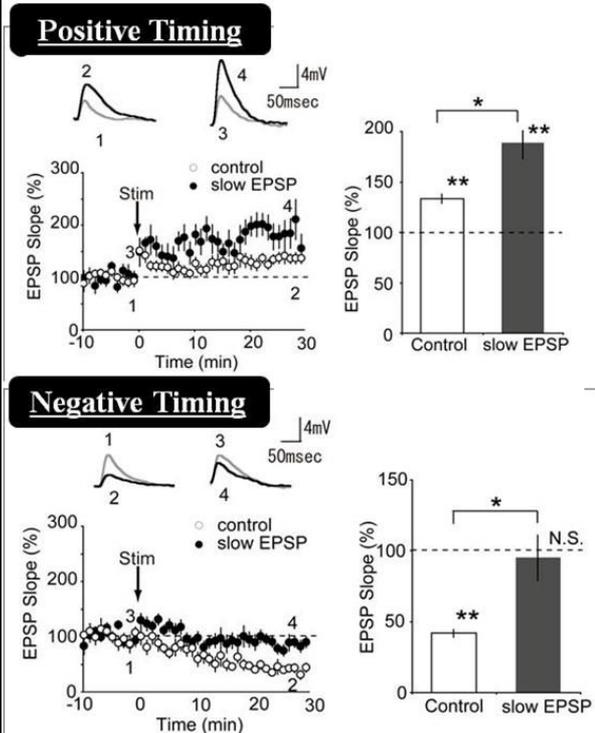


図4 STDP 誘起へのアセチルコリンの影響

本研究で特出すべき点は、

より生理現象に近い条件で内因性アセチルコリンを作用させるために、上昇層に反復刺激を入力し、シナプスターミナルよりアセチルコリンを放出させ、slow EPSP を誘導してできるだけ自然に近い条件で実験をすることに成功したこと。これは従来のカルバコールなどを用いた薬理実験と比較すると、明らかに生理現象により近い条件下で行ったものである。

STDP 誘導刺激を導入することで、LTP だけではなく LTD についてもアセチルコリンの効果を明らかにしたこと。本知見は、いまだ不明であった可塑性シナプスの長期増強・長期抑圧の両側面に対するアセチルコリンの影響を解明したものであり、その生理学的意義は大きい。

エゼリンを投与することでアセチルコリンの濃度を定量的に変化させ、薬理学的実験による検証も行い、さらに NMDA チャネルの関与も NMDA の投与により調べている。さらに、

細胞内へのカルシウムに着目した BCM モデル (Bienenstock et al 1982)における考察もなされ、そのシステムとしての妥当性の検討がなされた。

またエゼリン投与と電気刺激の同時刺激、あるいは高濃度のエゼリン投与により、ボトムアップ入力による STDP への過剰アセチルコリンの影響も調べている。結果として過剰なアセチルコリンは、LTP・LTD とともに誘起が阻害されることを見出した。

最後に、代謝型アセチルコリン受容体の阻害剤を用いて、上記の可塑性の修飾が代謝型アセチルコリン受容体の活性化によるものであることを明らかにした。

以上、本研究により内因性アセチルコリンの記憶神経回路における情報処理の影響が明らかになった。このことは、随意行動や注意などにおける脳内情報処理の生理現象を細胞レベルで見たことになり、今後はモデルの構築へとつながり、新しい世代の工学的な情報記憶装置の基盤および認知心理学の分野への重要な知見となりうる。

## (2) ネットワークレベルのトップダウン情報とボトムアップ情報の相互作用

(恐怖条件づけにより聴覚野に生じる異なる感覚モダリティの統合)

<結果と考察> (図5、図6参照)

結果として、条件付け前には全く見られなかった両足電気刺激に対する聴覚野の応答が条件付け後に観測された(図5)。さらに、CS音と両足電気刺激に対する聴覚野応答領域には、相関が見られた。これらの結果は、恐怖条件刺激である電気刺激によるUS情報が、扁桃体、前脳基底部を経て聴覚野へアセチルコリンとGABAが放出される。また同時に聴覚皮質の1,2層へも直接投射がある。ここでCS音に対する聴覚入力により活性化した錐体細胞において、ボトムアップ入力とUS刺激によるトップダウン入力の連合により音刺激のみでも聴覚野に応答が起こるようになり、その結果、条件付けに使用した聴覚刺激の応答領域と音刺激の領域に相関がみられるものと考えられる。

さらに、聴覚刺激と両足電気刺激に加え視覚刺激による2次条件付けを行った。結果として、条件付け無しの個体では、フットショックに対して体性感覚野の応答のみであったが、2次条件付けした個体では、聴覚野と視覚野にも応答が見られた(図6)。これは、エピソード記憶のセルアセンブリを示すものであると考える。あるいは、触覚が見えたり、聞こえたりする事を示唆し、共感覚のメカニズムを神経レベルで実証する事に成功したとも考えられる。

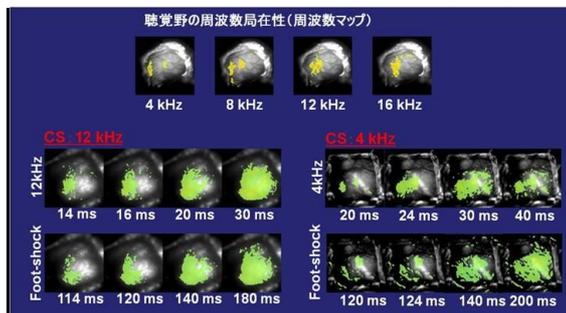


図5 聴覚皮質の応答変化

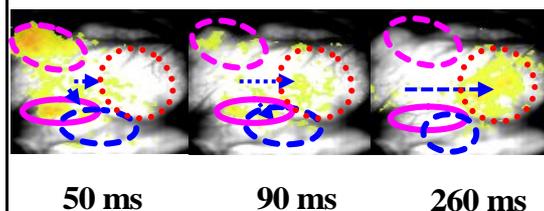


図6 聴覚、視覚、感覚皮質の応答変化

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計15件 すべて査読有)

- [1]Kamijo C.T., Hayakawa H., Fukushima Y., Kubota Y., Isomura Y., Tsukada, M., and Aihara T. *Input integration around the dendritic branches in hippocampal dentate granule cells.* Cognitive Neurodynamics, 1-10, 2014  
DOI : 10.1007/s11571-014-9280-6
- [2]Kondo M., Kitajima T., Fujii S., Tsukada M., and Aihara T. *Modulation of synaptic plasticity by the coactivation of spatially distinct synaptic inputs in rat hippocampal CA1 apical dendrites.* Brain Research, Vol. 1526, pp. 1-14, 2013  
DOI:10.1016/j.brainres.2013.05.023
- [3]Ide Y., Takahashi M., Lauwereyns J., Sandner G., Tsukada M., and Aihara T. *Fear conditioning induces guinea pig auditory cortex activation by foot shock alone.* Cognitive Neurodynamics, Vol. 7, Issue 1, pp. 67-77, 2013  
DOI:10.1007/s11571-012-9224-y
- [4]Ide Y., Miyazaki T., Lauwereyns J., Sandner G., Tsukada M., and Aihara T. *Optical imaging of plastic changes induced by fear conditioning in*

*the auditory cortex*. Cognitive Neurodynamics, Vol. 6, Issue 1, pp. 1-10, 2012

DOI:10.1007/s11571-011-9173-x

- [5] Yamaguchi Y, Sakai Y Reinforcement learning for discounted values often loses the goal in the application to animal learning. Neural networks : the official journal of the International Neural Network Society 35C 88-91, 2012

DOI:10.1016/j.neunet.2012.08.004

- [6] Sugisaki E., Fukushima Y., Tsukada M., and Aihara T. Cholinergic modulation on spike timing-dependent plasticity in hippocampal CA1 network. Neuroscience, Vol. 192, pp. 91-101, 2011

DOI: 10.1016/j.neuroscience.2011.06.064.

- [7] Nishiyama M., Togashi K., Aihara T., and Hong K. GABAergic activities control spike timing- and frequency-dependent long-term depression at hippocampal excitatory synapses. Front. Syn. Neurosci., Vol. 2:22, pp. 1-15, 2010 DOI: 10.3389/fnsyn.2010.00022

〔学会発表〕(計 90 件)

- [1] E. Sugisaki, Y. Fukushima, M. Tsukada, T. Aihara. Endogenous acetylcholine contributes to STDP. The 4th International Conference on Cognitive Neurodynamics, ICCN2013, June 24, 2013, Sigtuna
- [2] Y. Ide, M. Takahashi, J. Lauwereyns, M. Tsukada, and T. Aihara. Optical imaging of plastic changes induced by fear conditioning in auditory, visual, and somatosensory cortices. ICCN2013 The 4th International Conference on Cognitive Neurodynamics, June 24, 2013, Sweden

〔図書〕(計 1 件)

- [1] Samura T., Sakai Y., Hayashi H., and Aihara T. *Distance- and direction-dependent synaptic*

*weight distributions for directional spike propagation in a recurrent network: Self-actuated shutdown of synaptic plasticity.*

Lecture Notes in Computer Science, Vol. 8228, pp. 1-8, 2013

〔産業財産権〕  
出願状況(計 1 件)

名称: 脈動測定装置、脈動測定方法、及びプログラム

発明者: 相原 威・井出 吉紀

権利者: 玉川学園

種類: 特願

番号: 2013-126786

出願年月日: 平成 25 年 6 月 17 日

国内外の別: 国内

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

<http://www.tamagawa.ac.jp/teachers/aihara/>

## 6 . 研究組織

### (1) 研究代表者

相原 威 (Aihara Takeshi)

玉川大学・工学部 教授

研究者番号: 70192838

### (2) 研究分担者

酒井 裕 (Sakai Yutaka)

玉川大学・脳科学研究所 教授

研究者番号: 70323376

藤井 聡 (Fujii Stoshi)

山形大学・医学部・教授

研究者番号: 80173384

### (3) 連携研究者

塚田 稔 (Tsukada Minoru)

玉川大学・脳科学研究所・特別研究員

研究者番号: 80074392