

令和元年6月13日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K12703

研究課題名(和文) マルチニューロン記録法で解明するデフォルト脳活動の神経基盤

研究課題名(英文) Multi-neuronal recording analysis of rodent cortex to reveal neural basis of default mode network

研究代表者

齊木 愛希子 (Saiki, Akiko)

広島大学・医歯薬保健学研究科(医)・特別研究員(PD)

研究者番号：00779051

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：げっ歯類におけるデフォルト脳活動領域を、「課題時と比較して安静時に活動が上昇する領域」として探索するため、課題時と安静時を明瞭に区別できるマウス用課題の構築と生理的指標の記録を試みた。自由行動下のマウスでは十分な安静時間取得することが困難であったが、頭部固定下のマウスにおいて課題遂行時と安静時を区別できる新規課題の構築と、安静時を明瞭に区別するための運動量の定量化方法を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

げっ歯類は遺伝学を用いて脳における特定の細胞の活動を操作することが容易なことから、げっ歯類を用いた研究はデフォルト脳活動の存在意義やデフォルト脳活動と精神疾患との関連を調べるうえで重要な知見をもたらすと考えられる。しかし、げっ歯類に課題中・安静時を規定した行動をコントロールすることはこれまで困難であった。本課題の成果により、マウスの頭部固定状態で安静時と課題時を明確に区別することが可能となり、今後げっ歯類を用いたデフォルト脳活動を研究する上で有用となると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We developed a behavioral task that can clearly distinguish between task periods and rest periods for mice. It was difficult to define the rest periods in freely moving mice, though we established a new task that can easily define the rest periods using electromyogram (EMG) feedback system under head-fixed conditions. Our task could be exploited in future efforts to reveal the default mode network of rodent.

研究分野：神経科学

キーワード：デフォルト脳活動

1. 研究開始当初の背景

デフォルト脳活動、またはデフォルトモードネットワーク (DMN) は課題遂行時と比較して安静時に活動が上昇する脳活動 (または脳部位ネットワーク) として定義され、内的精神状態もしくは外的環境の受動的なモニタリング、そして記憶の無意図的な想起の活動などを反映すると考えられている。アルツハイマー病やうつ病、統合失調症などではデフォルト脳活動に異常がみられ、それらの症状とデフォルト脳活動に正の相関または負の相関があることから、デフォルト脳活動が正常な脳機能活動を維持するために何らかの役割を果たしていると考えられている。近年サルやラットにおいてもデフォルト脳活動が存在することが示され、げっ歯類において課題中に DMN 関連領域の活動の相関が上昇することが報告されたが [Li et al., J Neurosci., 2015, Vanni et al., J Neurosci., 2017]、脳の各領域における活動の大まかな指標である酸素レベルやカルシウムイメージングの特定周波数を解析したものであり、どのような細胞の発火活動が反映されているのか不明であった。

デフォルト脳活動を示す脳領域はヒトやサルにおいて内側前頭前野 (mPFC) と後帯状皮質 (PCC)、そして前帯状皮質 (ACC) などが報告されている。mPFC においては安静時に活動が高いデフォルト脳活動を、課題遂行中のシングルユニット活動 (発火活動) の低下として捉えられた報告もある [Hayden et al., PNAS, 2009]。そのため、本研究課題で記録する脳領域は、mPFC、ACC そしてげっ歯類において PCC に相当する部位として脳梁膨大後部皮質 (RSC) を DMN 関連領域としてターゲットとした (図 1)。また fMRI の BOLD 信号はガンマ帯域のオシレーションとよく相関する報告があり [Lachaux et al., 2007]、ヒトにおいて課題中の脳波を測定した研究で mPFC と PCC のガンマ波が減少していることも報告されている [Jebri et al., 2010]。そのため、げっ歯類において課題中のユニット活動を調べるだけでなく、LFP のガンマ波の増減も同時に比較検討する。

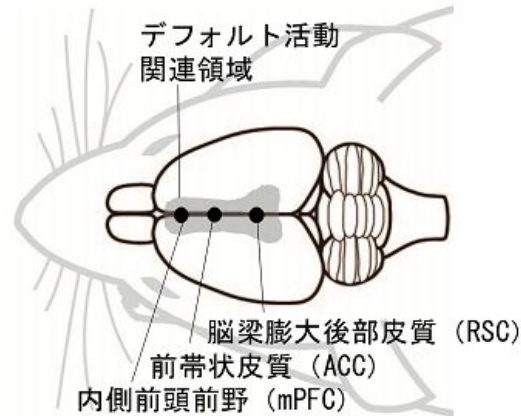


図 1. げっ歯類においてデフォルト脳活動を示す脳領域

2. 研究の目的

本研究では、課題中のマウスの脳活動を興奮性細胞と抑制性細胞の発火パターンに分類して解析することができるマルチユニット記録法により測定し、マウスのデフォルト脳活動を示す脳領域間の詳細なネットワーク活動を検討することを目的とした。まず、げっ歯類の課題時と安静時の脳活動を比較するため、課題遂行時と安静時を明瞭に区別できる課題の構築と運動量の定量化方法を確立させる。その後、デフォルト脳活動を示すと考えられている mPFC、PCC、RSC から記録を行い、コントロールである一次運動野や一次感覚野とユニット活動や LFP を比較する。

3. 研究の方法

無麻酔下のげっ歯類におけるデフォルト脳活動の記録は、動物の脳に慢性的に電極を埋め込み、自由に行動している動物から脳活動を記録する自由行動下と、動物の頭部を固定して訓練完了後に電極を急性的に刺入する頭部固定下の 2 種類の方法が可能である。安静時の定義のため、自由行動下ではマウスの運動量を、加速度計を頭部に電極と共に取り付けることで定量化し、頭部固定下では課題に使用する前肢に筋電図記録用の電極を埋め込み、定量化を試みる。

自由行動下のマウスの複数領域から脳活動を記録するため、16 チャンネル・4 本のテトラードを独立して操作可能なマイクロドライブを作成する。その後マウス頭部への埋め込み手術を行い、手術後、徐々に電極の深さを下げていく。マウスが手術から回復後、給水制限を施し、順化を行った後、マウス用行動課題制御ボックスである Bpod (Sanworks) の中に入れ左右の飲み口から報酬を得る課題を課す。課題のプログラムは Matlab で制御する。

頭部固定下のマウスは頭部固定具取り付け手術の際に前肢に筋電図用電極を埋め込む。その後、給水制限、順化を行い、ホイールを回転させる課題を課す。ホイール回転や筋電図活動の検出等、課題制御は PCIe-6323 (National Instruments)、RHD2000 USB Interface Board (Intan Technologies)、Matlab を用いる。マウスの訓練は Guo et al., 2014 の頭部固定マウスにおける訓練手順に則って行う。手術後 5 日間の回復期間をおいた後、4 日間にわたって給水制限を行う。給水は 1 日 1 ml のみとし、毎日同じ時刻に与える。その後 4 日間にわたって頭部固定状態での順化を行った後、ホイール回転量に応じて水を与えることでホイールと報酬のアソシエ

ーションを行う。3日間この訓練を行った後、光と音を組み合わせた開始信号提示前はブレーキでホイールを固定しておき、開始信号に応じてホイール回転を開始させる課題を行う。開始信号の前に筋活動を検出した場合はその試行を中止させる。ウレタン麻酔下でテトロード記録の予備実験を行い、複数的大脑皮質領域から記録が行えることを確認した後、無麻酔下での記録を行う。

4. 研究成果

過去にげっ歯類においてデフォルト脳活動を無麻酔中に記録した報告は自由行動下、もしくは頭部固定状態下それぞれ1報のみであったため、どちらがよりデフォルト脳活動の記録に適しているのかを検討した。自由行動下の方が運動量の定量が簡便であったことと、マウスの行動が制限されずより自然な安静時活動を記録できると考え、先ず自由行動状態のマウスの脳に複数カ所電極を埋め込み、給水制限を施した後、光提示に合わせて左右の飲み口からどちらかの水を選択する課題を課した。試行と試行の間には十分な(10秒)試行間インターバルを設けることで、試行間に安静時活動を記録することを試みた。しかし、数匹の予備実験の結果、自由行動下のマウスは常に動き続けており、解析するのに十分な安静時期間を得ることができないと判明した。そこで方法を頭部固定下に移行し、課題遂行時と安静時を明瞭に区別できる課題を検討した。マウスに音と光の提示と同時にホイール回転運動を開始させ、光提示中はホイールを回し続ける(運動し続ける)課題を行わせた。そして、課題の各試行と試行の間の試行間インターバルを、8~10秒と十分に長く設定した。

運動開始1秒前に筋電図の活動を確し、もし筋活動が検出された場合はその試行をキャンセルさせるフィードバックを行うことで、試行間インターバル中の運動を抑え、安静時活動を確実に記録することが可能となった。なお、筋電図はホイール回転に使用するマウスの前肢4カ所(二頭筋、三頭筋、長掌筋、長橈側手根伸筋)に電極を埋め込んだ。マウスは2週間から4週間でこの課題を学習し、筋活動は前肢の屈筋と伸筋で交互に活動がみられた。さらに、ウレタン麻酔下においてデフォルト脳領域であるmPFC、RSCと、コントロールとして側方皮質ネットワークを構成する一次運動野と一次感覚野からテトロード電極を用いた多点マルチニューロン記録を行い、4カ所から安定して記録が行えることを確認した(図2)。

今後この課題と実験手法を用い、デフォルト脳領域とみなされる領域とそれ以外の脳領域から同時に脳活動を記録することで、マウスにおけるデフォルト脳領域の探索と、脳活動と行動との関連性が検討可能となった。今後の展望として、無麻酔下での多領域記録を行い、デフォルト脳領域の細胞レベルでのネットワーク活動を明らかにしたい。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 4 件)

- (1) Ebbesen Christian L., Insanally Michele N., Kopec Charles D., Murakami Masayoshi, Saiki Akiko, Erlich Jeffrey C.
More than Just a "Motor": Recent Surprises from the Frontal Cortex.
Journal of Neuroscience, 査読有り, 38(44) 9402-9413, 2018年
DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1671-18.2018
- (2) Yoshida Junichi, Saiki Akiko, Soma Shogo, Yamanaka Ko, Nonomura Satoshi, Rios Alain, Kawabata Masanori, Kimura Minoru, Sakai Yutaka, Isomura Yoshikazu
Area-specific Modulation of Functional Cortical Activity During Block-based and Trial-based Proactive Inhibition.
Neuroscience, 査読有り, 388 297-316, 2018年
DOI: 10.1016/j.neuroscience.2018.07.039
- (3) Saiki Akiko, Sakai Yutaka, Fukabori Ryoji, Soma Shogo, Yoshida Junichi, Kawabata Masanori, Yawo Hiromu, Kobayashi Kazuto, Minoru Kimura, Isomura Yoshikazu

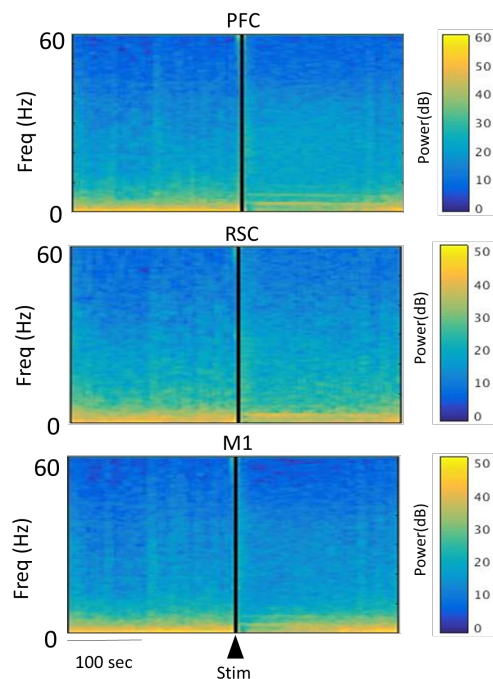


図2. テトロード電極記録による mPFC, RSC, M1 における皮質下領域刺激前後の局所フィールド電位の変化

In Vivo Spiking Dynamics of Intra- and Extratelencephalic Projection Neurons in Rat Motor Cortex.

Cerebral Cortex、査読有り、28(3) 1024-1038、2018 年

DOI: 10.1093/cercor/bhx012

(4) Soma Shogo, Saiki Akiko, Yoshida Junichi, Rios Alain, Kawabata Masanori, Sakai Yutaka, Isomura Yoshikazu

Distinct laterality in forelimb-movement representations of rat primary and secondary motor cortical neurons with intratelencephalic and pyramidal tract projections.

Journal of Neuroscience、査読有り、37(45) 10904-10916、2017 年

DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1188-17.2017

〔学会発表〕(計 4 件)

(1) Akiko Saiki

In vivo spiking dynamics and encoding of forelimb movements in rat M1/M2.

Neuroscience 2018 (北米神経科学学会年会)

2018 年

(2) Hiroki Katsube, Akiko Saiki, Yutaka Sakai, Yoshikazu Isomura, Toshikazu Samura
Reward and Behavior-duration Modulation of Task-related Cells in Hippocampal CA1.

第 41 回日本神経科学大会

2018 年

(3) Masanori Kawabata, Shogo Soma, Akiko Saiki, Junichi Yoshida, Alain Rios, Yutaka Sakai, Yoshikazu Isomura

Characterization of sensory and motor representation across rodent sensory, association, and motor cortices.

Neuroscience 2017 (北米神経科学学会年会)

2017 年

(4) Shogo Soma, Akiko Saiki, Junichi Yoshida, Alain Rios, Masanori Kawabata, Yutaka Sakai, Yoshikazu Isomura

Laterality representation of intratelencephalic and pyramidal tract projection neurons in the motor cortices during forelimb movements of the rat.

第 40 回日本神経科学大会

2017 年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究分担者

なし

(2) 研究協力者

なし

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。