

令和元年6月7日現在

機関番号：24402

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K14937

研究課題名(和文) 中枢神経系のサイレント・マジョリティが担う機能 エングラム表現への関与

研究課題名(英文) Function of "silent majority" in the central nervous system

研究代表者

宮脇 寛行 (Miyawaki, Hiroyuki)

大阪市立大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：40785979

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：中枢神経系の神経細胞のうち活発なアクティブ細胞はごく一部であり、大多数は活動の低いサイレント細胞であるが、これらの細胞の違いは不明であった。本研究ではアクティブ細胞とサイレント細胞の活動変化を偏りなく評価する手法を開発し、大規模電気生理学記録によって得られた海馬および大脳皮質の神経活動を解析した。その結果アクティブ細胞とサイレント細胞でレム睡眠とノンレム睡眠の間の状態遷移にともなう活動制御に差があることが明らかとなった。また睡眠全体を通してみると、神経活動は全体として徐々に低下していたが、その度合は海馬ではサイレント細胞でより顕著であり、大脳皮質ではアクティブ細胞でより顕著であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、睡眠を通して神経細胞間の活動の「ばらつき」が変化することを明らかとした。さらに、この変化がレム睡眠とノンレム睡眠の間の状態遷移の際に顕著に見られることを発見した。これは、従来あまり論じてこられなかったレム睡眠・ノンレム睡眠の間の状態遷移が持つ機能に光を当てるものである。また睡眠全体を通してみると、細胞間のばらつきの変化が海馬と大脳皮質で異なることを明らかとした。このような脳領域間の差は、それぞれの脳領域が担う機能の差を反映している可能性が考えられ、それぞれの脳領域でアクティブ細胞とサイレント細胞が異なる形で脳機能に関与している可能性を示唆している。

研究成果の概要(英文)：Neuron in the central nervous system consists of minority "active" cells and majority "silent" cells. In this study, I developed a new method which can evaluate changes in activity of active and silent cells with no bias. Then the method was applied to neuronal activity of hippocampal and neocortical neurons obtained with large-scale electrophysiological recordings in freely behaving rats. It is revealed that firing activity of active and silent cells were differently modulated on transitions across REM and non-REM sleep. Also, it was confirmed that neuronal activities were gradually decreased across sleep as previously reported. Interestingly, in the hippocampus silent cells decrease their activity more than active cells, whereas in the neocortex active cells showed more prominent decrease than silent cells.

研究分野：神経生理学

キーワード：睡眠 海馬 大脳皮質 恒常性維持 大規模電気生理学

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

中枢神経系を構成する神経細胞の活動には、同じ細胞種であっても 100 倍以上もの大きなばらつきが見られる。この多様な神経細胞のうち活発に活動している「アクティブ細胞」はごくわずかであり、脳神経細胞の大多数は活動が低い「サイレント細胞」に占められている。しかし、サイレント細胞がどのような活動制御を受けており、脳での情報表現においてどのような役割を果たしているのかは明らかではなかった。

2. 研究の目的

本研究では、アクティブ細胞とサイレント細胞を対比することにより、それぞれが持つ生理学的な意義を明らかにすることを目的とする。この目的のため(1)ラットの脳内でアクティブ細胞およびサイレント細胞が受ける活動制御の解析、(2)サイレント細胞とアクティブ細胞の活動を個別に操作する分子ツールの開発、の2つを並行して進めた。

3. 研究の方法

アクティブ細胞ならびにサイレント細胞を個別に操作する分子ツールとして、(a)Cre 依存的にチャネルロドプシン 2 (ChR2) とアーキドプシン T (ArchT) の発現が切り替わる DNA を組み込んだアデノ随伴ウイルス (AAV) (b)活動依存的に発現する遺伝子である c-Fos のプロモーター下流に Cre 遺伝子をつないだ DNA を組み込んだ AAV、の2つのウイルスベクターを作成し、2重感染させることで細胞の活動に応じて興奮・抑制を切り替えられる分子ツールを設計した(図1)。

また、ラットの海馬にシリコン製微小電極を刺入し、自由に行動・睡眠しているラットから多数の神経細胞の活動を記録した。同時に記録された錐体細胞を、その発火頻度に基づいて5つのグループに分け、それぞれの活動が脳状態の変化によってどのように制御されているかを解析した。ここでは自発的に生じる最も顕著な脳状態変化として、睡眠時のレム (rapid eye movement) 睡眠とノンレム睡眠の状態遷移を対象とした。また、crcns.org より大脳皮質での活動記録データを入手し、同様の解析を行い海馬との比較を行った。

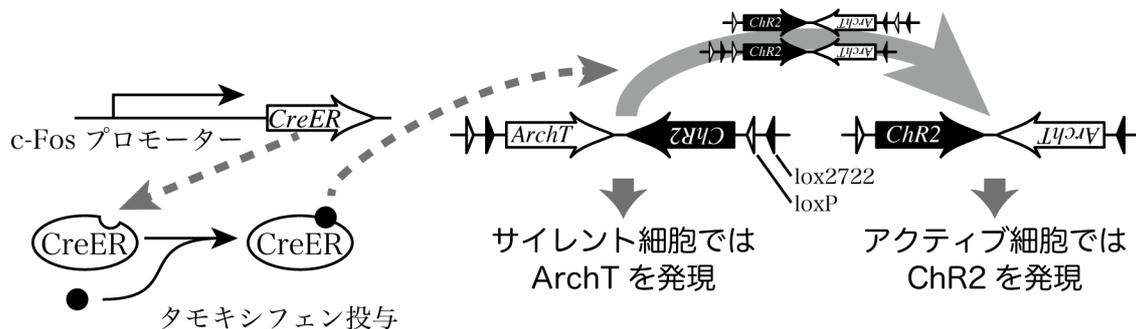


図1 サイレント細胞とアクティブ細胞を個別に操作する分子ツール

活動依存的に発現する c-Fos 遺伝子のプロモーター領域下流にタモキシフェン依存型 DNA 組み換え酵素である CreER をつなぐ (左図)。また、Cre 認識配列である loxP および lox2722 の間に ArchT を順方向に、ChR2 を逆方向にして配置する (右図)。この2つの遺伝子を AAV ベクターで導入することにより、タモキシフェン投与時の活性に応じて ArchT と ChR2 の発現が切り替わるシステムを構築することができる。

4. 研究成果

ある集団を計測値に基づいて分割し変化を比較すると、実際には群間に差は存在しない場合でも差があるように見える「平均への回帰」とよばれる統計学的な現象がある。そこで本研究ではまず、平均への回帰による効果を補正した上で変化を評価するために **Deflection Index (DI)** という指標を新たに開発した。次に、DI を用いて海馬ならびに大脳の錐体細胞の活動が脳状態に応じてどのように制御されているかを、サイレント細胞とアクティブ細胞で比較した。

その結果、海馬錐体細胞ではノンレム睡眠からレム睡眠に変化する際に発火頻度が低下し、その低下はサイレント細胞でより顕著にみられることが明らかとなった (図 2A)。一方、大脳皮質ではレム睡眠の遷移にともない神経発火頻度の上昇が観察された。この上昇はアクティブ細胞でより強く見られた (図 2B)。これらの結果は、海馬と大脳皮質ではレム睡眠への遷移にともない発火頻度が低下するか上昇するかという差がある一方で、神経細胞間の活動のばらつきに注目すると、どちらの脳領域においてもばらつきが大きくなる、という方向の変化がみられることを示している。対照的に、レム睡眠からノンレム睡眠への遷移時には活動のばらつきが小さくなる変化が海馬・大脳の両方でみられた (図 2CD)。

このように、ノンレム睡眠とレム睡眠の間の状態遷移に応じて、異なる活動制御が見られることが明らかとなった。通常、一度の睡眠の間にはノンレム睡眠とレム睡眠の間が交互に現れ数回の状態遷移が見られる。そこで次に、睡眠全体がサイレント細胞とアクティブ細胞に与える影響を評価するため、数回のノンレム睡眠とレム睡眠を含む睡眠全体の変化について DI を用いて解析した。その結果、海馬と大脳皮質のいずれにおいても、全体として神経細胞の発火活動は睡眠によって徐々に低下してゆくというこれまでの研究結果と合致する結果を得た。また、サイレント細胞とアクティブ細胞の活動変化の違いに注目すると、海馬ではサイレント細胞でより顕著な低下がみられるのに対し、

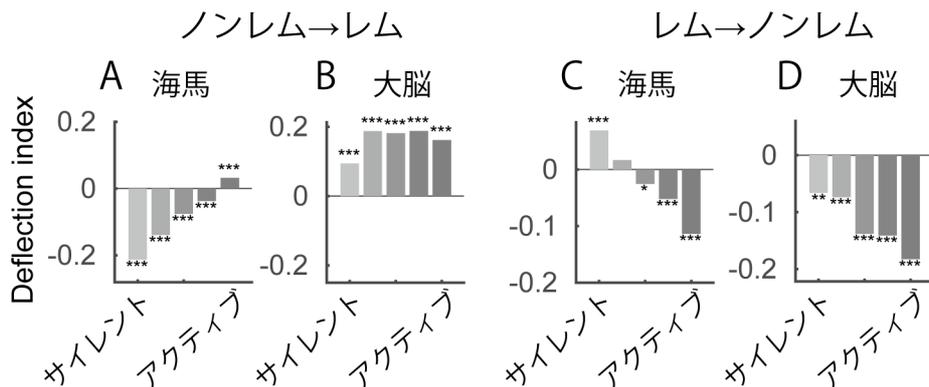


図 2 ノンレム睡眠とレム睡眠の遷移にともなう神経発火の制御

A,B ノンレム睡眠からレム睡眠への変化にともなう海馬(A)および大脳皮質 (B) の錐体細胞の活動変化。活動度によって変化の度合いがことになっており、サイレント細胞とアクティブ細胞の活動度の差が広がっている。

C,D レム睡眠からノンレム睡眠への変化にともなう海馬(C)および大脳皮質 (D) の錐体細胞の活動変化。ノンレム睡眠からレム睡眠への変化とは対照的に、サイレント細胞とアクティブ細胞の活動が小さくなる変化が見られる。

大脳皮質ではアクティブ細胞により顕著な活動低下が見られた。

このように、アクティブ細胞とサイレント細胞は睡眠中に異なる活動制御を受けており、そのパターンは脳領域によっても差があることが明らかとなった。この差が持つ生理学的な意味は不明であるが、1つの可能性として、海馬と大脳皮質が果たす機能の差を反映している可能性が考えられる。また、アクティブ細胞とサイレント細胞が異なる制御を受けていることから、アクティブ細胞とサイレント細胞が異なる形で脳機能に関与している可能性がある。これら点については、現在開発中のアクティブ細胞とサイレント細胞の活動を個別に操作する分子ツールを用い、各脳領域でアクティブ細胞とサイレント細胞の活動を個別に操作しその影響を評価することで解明できると期待される。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計1件)

Miyawaki, H., Watson, BO., & Diba, K. (2019) Neuronal firing rates diverge during REM and homogenize during non-REM. **Scientific Reports** 9 (1):689 doi: 10.1038/s41598-018-36710-8.

[学会発表] (計0件)

該当なし

[図書] (計1件)

Mizuseki, K., & **Miyawaki, H.**, (in press) Hippocampal information processing and homeostatic regulation during REM and non-REM Sleep. **A Handbook of sleep research.**

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

該当なし

○取得状況 (計0件)

該当なし

[その他]

該当なし

6. 研究組織

(1)研究分担者

該当なし

(2)研究協力者

該当なし

※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。