

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：63905

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18K06536

研究課題名（和文）情動記憶形成過程における脳内情報処理機構の時空間的変遷

研究課題名（英文）Spatio-temporal dynamics of brain computation upon emotional memory formation

研究代表者

揚妻 正和（Agetsuma, Masakazu）

生理学研究所・基盤神経科学研究領域・特任准教授

研究者番号：30425607

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：大脳皮質内側前頭前野（mPFC）は喜怒哀楽などの情動の制御に重要である。その動作原理の理解に向けては、行動中の動物から神経集団の活動を記録することによる「神経群ネットワークとしての情報処理」の理解が鍵となるが、従来の技術的な制約もあり、その知見は非常に限定的であった。本研究では、2光子イメージングによる多数の神経活動の経時的観察、深部イメージング技術、顕微鏡下での学習課題、などが統合した新たなシステムを確立し、学習過程におけるmPFC神経活動の記録と、機械学習を用いたデータ解析を行った。これにより、情動記憶形成過程における脳内情報処理機構の時空間的変遷とその背景にある仕組みの理解を深めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

前頭前野は喜怒哀楽などの情動の制御に重要であり、その制御異常は統合失調症やPTSDなどの難治性精神疾患に関わる。その動作原理の理解には、行動中の動物から神経集団の活動を記録することによる「神経群ネットワークとしての情報処理」の理解が鍵となると考えられていたが、これまでの技術では非常に困難であった。本研究は、様々な光学技術の新規開発により、学習の前、最中、及び学習後の記憶想起中のマウスから、大規模神経活動記録を可能とし、さらにAI・機械学習の新たなアルゴリズムを開発することで情報解読を可能とした。それにより、情動記憶制御の背景にある新たな脳内の計算原理・基盤を見出すことにつながった。

研究成果の概要（英文）：The medial prefrontal cortex (mPFC) is important to regulate emotions such as pleasure, anger, sadness, and fear. The key to understand its underlying brain mechanism is to understand information processing as a group of neurons (called population coding) by simultaneously recording the activity of large number of neurons in awake animals. But due to technical limitations, the nature of this population coding is poorly understood. In this study, we developed a pipeline for computational dissection and longitudinal two-photon imaging of neural population activities in the mouse dmPFC during fear-conditioning procedures, enabling us to detect learning-dependent changes in the dmPFC topology. We demonstrated learning-dependent dynamic modulation of population coding structured on an activity-dependent hub-network formation within the dmPFC.

研究分野：システム神経生理学・情動研究

キーワード：二光子イメージング population coding 恐怖条件付け 前頭前野 光遺伝学

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大脳皮質は脊椎動物の中でも特にヒトで肥大化し、「知性」や「情動」を形作る上で重要であると考えられる。中でも前頭前野背外側部は、作業記憶、注意力、長期的な計画力など様々な高次機能を担い、さらにはうつ病や PTSD、統合失調症などの精神疾患との関連も深い。同様の機能を持つと言われるマウスの「内側前頭前野 (mPFC)」もまた、作業記憶のほか、報酬記憶・嫌悪記憶といった様々な情動に関する記憶の管理を担っている。

近年の分子遺伝学の目覚ましい進展により、精神疾患に関わる様々な遺伝子が同定され、医療への応用に期待が高まっている一方、それぞれの遺伝子の役割に個人差が大きいなど、遺伝子型だけでは理解できない部分が多いことも分かってきている。したがって、それらに関わる神経回路での情報処理メカニズムを詳細に解き明かし、精神疾患の治療などといった応用に結び付けていくことが期待される。

しかしながら、特に恐怖やストレス応答に関する情報処理という観点では、まだまだ不明な点が多い。脳内では、多数の神経細胞が集団として活動することで演算が成立すると考えられている。それに対し、従来の技術的な制約もあって、特に行動中の動物からその神経「集団」の活動を記録することで初めて調べられるような「神経群ネットワークとしての情報処理」に関する知見は、これまでのところ非常に限定的である。

2. 研究の目的

そこで本研究では、以下に示すような独自に開発してきた光学的手法を用いることで、擬似自由行動中のマウスにおける神経活動の計測と操作を実現させ、「情動記憶」の神経回路とその情報処理基盤を解明することを目的として研究を開始した。

大脳皮質内側前頭前野 (mPFC) は「情動」の制御に重要であると考えられる。しかしながら、従来の技術的な制約もあって、特に行動中の動物から神経「集団」の活動を記録することで初めて調べられるような「神経群ネットワークとしての情報処理」に関する知見は、これまでのところ特に mPFC に関して非常に限定的である。本研究では、(1) 2光子イメージングによる多数の神経活動の経時的観察、(2) 深部イメージング、(3) それらと光遺伝学を「同時に」行うための光学系、を統合させた独自のシステムを用い、擬似自由行動中のマウス mPFC での神経活動の「記録・操作」を進めていく。そしてそれら技術を利用して、情動記憶形成過程における脳内情報処理機構の時空間的変遷を把握し、その仕組みを理解することを目的とし、研究を開始した。

3. 研究の方法

研究代表者はこれまで、マウス大脳皮質での情報処理メカニズムに着目し、光による神経活動の記録と操作法を利用して、神経群ネットワークにおける情報処理機構について研究を進めてきた (Agetsuma et al., *Cerebral Cortex*, 2017; Karnani, Agetsuma, and Yuste, *Curr. Opin. Neurobiol.*, 2014)。その中で、遺伝子コード型のセンサーを用いた光神経活動イメージング、および光遺伝学による神経活動操作を「同時」に行う手法を確立した。2光子イメージング技術による多数の神経細胞からの同時記録に加え、Cre-lox システムを応用することで、特定のサブタイプに限定した光による神経活動の操作を可能としている。この「多数の神経活動の経時的記録」と「ミリ秒単位の分解能でのサブタイプ特異的な神経活動操作」の同時実現によって、(1) 神経細胞集団による情報処理の基盤、(2) その構成要素としての特定の神経細胞の役割、(3) 認知や行動との因果関係、などそれぞれの関係性を直接的に検証可能となっていることが大きな特色の一つである。

本研究では、これらの技術を内側前頭前野 (mPFC) の研究に応用し、擬似自由行動中のマウスを用いた *in vivo* 光神経イメージング・光遺伝学を行うことで、「恐怖記憶に関わる情報処理機構」を明らかにすることを目指した。上記技術に加え、マイクロプリズムを利用した低侵襲性の脳深部イメージング技術を組み合わせることで、従来技術的に困難であった mPFC 深部からのイメージングを実現し、mPFC にコードされた情動記憶に関する神経群活動を計測可能とした。研究代表者はこれまでに、上述の実験に加え、遺伝学的アプローチによって恐怖など様々な情動に関わる神経回路の研究を行ってきた (Agetsuma et al. *Nature Neuro.*, 2010; Aoki et al.,

Neuron, 2013; Amo et al., Neuron, 2014; Chou et al., Science 2016)。これらの経験を生かし、その実験の基盤となるそれぞれの技術を確立した。

さらに、共同研究を通じて機械学習などによる解析技術を開発し、得られた神経活動情報からの解読を進め、情動記憶を形成・保持するための基盤を同定してきた。

これらを総合的に展開することで、情動記憶を司る脳内情報処理様式の解明を進めた。

4. 研究成果

過去の研究で、mPFCの一部、前辺縁皮質(PL)では、学習依存的な恐怖反応に伴って、神経活動の上昇が報告されている。すなわち、音と電気ショックの組み合わせで恐怖条件付けを行った場合、条件刺激である音に対しての神経活動は、学習の成立に伴い増加する(Sotres-Bayon and Quirk, *Curr. Opin. Neurobiol.*, 2010)。一方、本能的なすくみ行動には関係がないことが知られており、学習依存的にPLでの情報処理様式が変化し、そしてその「出力結果」として恐怖反応を引き起こしていると考えられる。

それを受け、深部イメージングを行うための光学系・実験手法を確立し、PLを中心としたmPFCからの神経活動観察を進めた。遺伝子コード型カルシウムセンサーの利用により、長期的に細胞を標識し、同一の神経細胞群における学習経過を通じた神経発火パターンの変化についてのデータ取得を取得した。

一方、前頭前野は多岐に渡る脳機能に関連し、そのためそこで処理される情報も多様である。そうした多様な情報を並列に処理するmPFCの神経活動データの解読は、従来の解析法では困難なことが示された。

そこで、AI・機械学習の専門家である佐藤一誠博士(東京大学/理研AIP)との共同研究を行い、高い特徴抽出力を持つモデルベースの機械学習アルゴリズムを開発した(bioRxiv, 2021)。これにより、多様な情報を並列処理するmPFCから、恐怖記憶をコードする神経細胞集団を選別可能とした。

そしてさらに、メキシコ国立自治大学のLuis Carrillo-Reid博士との国際共同研究により、グラフィカルモデルを利用した神経細胞間の機能的結合を検証する手法を導入した。その結果、学習依存的に起こる神経回路再編の可視化・定量化に成功し、その結果作られる新規脳回路により恐怖記憶がコードされていることが見出された(bioRxiv, 2021)。

恐怖条件付けによる記憶の獲得は古くから研究される「連合学習」の一種だが、本研究では連合学習の長年の謎であった「条件刺激(音など)の信号を条件反応(すくみ反応など)へ変換する回路が、連合学習により生成される様子」を、(知る限りにおいて)世界で初めて可視化することに成功した。そしてこれらの結果をもとに、論文化を推進した(bioRxiv 2022)。

参考文献

1. Agetsuma M.*, Sato I., Tanaka Y., Carrillo-Reid L., Kasai A., Arai Y., Yoshitomo M., Inagaki T., Hashimoto H., Nabekura J., Nagai T. (2021)

Activity-dependent organization of prefrontal hub-networks for associative learning and signal transformation. bioRxiv.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Takahashi Taiga, Zhang Hong, Kawakami Ryosuke, Yarinome Kenji, Agetsuma Masakazu, Nabekura Junichi, Otomo Kohei, Okamura Yosuke, Nemoto Tomomi	4. 巻 23
2. 論文標題 PEO-CYTOP Fluoropolymer Nanosheets as a Novel Open-Skull Window for Imaging of the Living Mouse Brain	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 101579 ~ 101579
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2020.101579	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 揚妻正和	4. 巻 26
2. 論文標題 不安・恐怖・孤独の脳機構	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 最新精神医学	6. 最初と最後の頁 105 ~ 116
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Horiuchi Hiroshi, Agetsuma Masakazu, Ishida Junko, Nakamura Yusuke, Lawrence Cheung Dennis, Nanasaki Shin, Kimura Yasuyuki, Iwata Tatsuya, Takahashi Kazuhiro, Sawada Kazuaki, Nabekura Junichi	4. 巻 11
2. 論文標題 CMOS-based bio-image sensor spatially resolves neural activity-dependent proton dynamics in the living brain	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 712
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-14571-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Inagaki Shigenori, Agetsuma Masakazu, Ohara Shinya, Iijima Toshio, Yokota Hideo, Wazawa Tetsuichi, Arai Yoshiyuki, Nagai Takeharu	4. 巻 9
2. 論文標題 Imaging local brain activity of multiple freely moving mice sharing the same environment	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7460
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-43897-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 揚妻正和、鍋倉淳一	4. 巻 36
2. 論文標題 光が拓く神経科学の未来 - オプトジェネティクスと光イメージング 「大脳皮質のシナプス再編」	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clinical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 959-962
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 揚妻正和
2. 発表標題 恐怖記憶生成における前頭前野情報処理と神経回路再編
3. 学会等名 第68回 中部日本生理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Agetsuma M., Sato I., Tanaka Y., Kasai A., Arai Y., Yoshitomo M., Hashimoto H., Nabekura J., Nagai T.
2. 発表標題 Optical and computational dissection of prefrontal neural circuit for fear memory.
3. 学会等名 The 44th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Agetsuma M., Sato I., Tanaka Y., Kasai A., Arai Y., Yoshitomo M., Hashimoto H., Nabekura J., Nagai T.
2. 発表標題 光と数理による恐怖記憶における前頭前野情報処理機構の解明
3. 学会等名 第98回日本生理学会大会 / 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会 合同大会 シンポジウム「大脳皮質局所神経回路構築と学習記憶によるリモデリング」にて (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Agetsuma M., Sato I., Tanaka Y., Kasai A., Arai Y., Yoshitomo M., Hashimoto H., Nabekura J., Nagai T.
2. 発表標題 Optical and computational dissection of prefrontal neural circuit for fear memory.
3. 学会等名 日本薬理学会第94回年会 シンポジウム「脳活動計測の新技术と数理解析の融合による情動研究の新展開」にて（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Agetsuma M., Sato I., Tanaka Y., Kasai A., Arai Y., Yoshitomo M., Hashimoto H., Nabekura J., Nagai T.
2. 発表標題 Optical and computational dissection of neural circuit for fear memory
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会（誌上開催）（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Masakazu Agetsuma, Yoshiyuki Arai, Atsushi Kasai, Hitoshi Hashimoto, and Takeharu Nagai
2. 発表標題 Population coding of fear memory in medial prefrontal cortex
3. 学会等名 Neuroscience2018（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 揚妻 正和
2. 発表標題 不安・恐怖関連神経回路における脳内情報処理基盤を「光」で読み解く
3. 学会等名 第11回日本不安症学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masakazu Agetsuma, Yoshiyuki Arai, Atsushi Kasai, Hitoshi Hashimoto, and Takeharu Nagai
2. 発表標題 Population coding of fear memory in prefrontal cortex
3. 学会等名 Federation of Asian and Oceanian Physiological Societies (FAOPS 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
メキシコ	Natinal Autonomous University of Mexico		