

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：32639

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K18563

研究課題名（和文）記憶形成を支える神経活動ダイナミクスの解明

研究課題名（英文）Neural dynamics and memory

研究代表者

田中 康裕（TANAKA, Yasuhiro）

玉川大学・脳科学研究所・准教授

研究者番号：20533128

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：新環境での試行錯誤と新記憶形成のプロセスにおいて、動物の行動が変化する瞬間の神経活動のダイナミクスを明らかにする。ニューロピクセル電極を使用して慢性的な神経活動の長期記録を行うための安定した電極保持ソケットを開発した。骨表面から正確な脳座標を決定するために、Long-Evansラットを使用して脳定位アトラスを作成した。仮想現実環境を使用した行動課題の開発や、頭部固定装置の改良も行った。実験では自由オペラント条件付け課題を行い、内側前頭前野から神経ピクセル電極を使用して神経活動を計測した。神経多様体の解析や集団的神経活動のモデル化を行った。記憶形成過程の解明に向けて技術開発を進める。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、新たな記憶形成と動物の行動における神経活動の関係を探求するために、様々な技術開発を行いました。新規装置の開発や仮想現実環境の導入、神経活動の長期間記録などを通じて、記憶形成の過程とその神経ダイナミクスをリアルタイムで捉え、理解を深めました。これらの研究成果は、学習・記憶に関する理論の発展、神経疾患モデルの改善、教育方法の進歩、AIやロボット技術の分野に対する人間行動のモデル化など、広範な分野に大きな影響を与える可能性があります。

研究成果の概要（英文）：We aim to clarify the dynamics of neural activity during the moments when animal behavior changes in new environments and during the process of new memory formation. We developed a stable electrode socket for long-term recording of chronic neural activity using Neuropixels. We created a brain atlas of Long-Evans rats to determine accurate brain coordinates. We also developed behavioral tasks using virtual reality environments and improved the head fixation device. Utilizing free operant conditioning, we measured neural activity from the rat medial prefrontal cortex using Neuropixels. We analyzed various neural activities and modeled collective neural activities. We continue to develop technology to elucidate the memory formation process.

研究分野：神経科学

キーワード：記憶

1. 研究開始当初の背景

研究代表者はげっ歯類を用いて運動学習の研究を進めてきた (Masamizu, Tanaka et al., *Nat. Neurosci.*, 2014; Tanaka, Tanaka et al., *Neuron*, 2018) が、令和元年に独立後は同じく齧歯類を用いて頭部固定下での知覚課題にも取り組んでいる。知覚課題の学習が進んだ状態では、ラットは刺激の強度に応じて報酬が出る刺激を選択するようになる。訓練を進める中で、学習初期には成功率が飛躍的に伸びることがしばしば観察される。しかし、このような時点は動物ごとにばらばらであり、偶発的な要素も強く、連続的に同じ細胞を計測してその活動変化を追うことも難しい。しかし、神経活動ダイナミクスを解析する過程で、個々の神経細胞を安定して記録できなくても、その背後にあるダイナミクスが推測可能であれば、そのダイナミクスの大きな変化として、学習の大きな変化が生じる瞬間についての神経科学を始めることができる。

2. 研究の目的

新しい環境で試行錯誤をし、新たな記憶を形成し、行動を変化させることは、動物にとって非常に重要な機能である。しかし、学習中、まさに動物の行動が変化する瞬間に神経活動のダイナミクスがどのように変化するかは、まだ十分に明らかになっていない。学習中の神経活動を調べることの困難は、同一の神経細胞を継続的に記録することが手法上難しいことに起因する。しかし、昨今の機械学習の技術の発展で、多細胞神経活動を、できるだけ情報を失わない形で比較的次元のダイナミクスで表現することができるようになってきた (Cunningham and Byron, *Nat Neurosci.*, 2014)。そのようなダイナミクスに着目するのであれば、必ずしも同じ細胞から記録を続ける必要はなく、細胞群を安定的に記録することでダイナミクスを安定して推定し続けることができればよい。数日から数週間に及ぶ課題訓練全体を見たとき、学習初期に見られた神経活動ダイナミクスと、習熟期に見られるダイナミクスがどこで切り替わるか、セッション内で切り替わる時点をレトロスペクティブに発見すれば、セッション内では同じ神経細胞を取り続けることができるため、ダイナミクスの変化を単一細胞レベルの解像度で定めることができる。本研究の目的は哺乳類の生体脳から長期的に記録を取り、そのダイナミクスを長期間にわたって推定することで、記憶が形成され、固定化するリアルタイムな過程を単一細胞解像度の神経活動ダイナミクスとして捉えることを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では、記憶の形成を神経活動のダイナミクスの変化として捉える。そのために、384 チャンネルの記録ができる最新のシリコンプローブであるニューロピクセル電極 (Jun et al., *Nature*, 2017) を用いて、大脳皮質から繰り返しの急性記録を行う。繰り返しの記録により、同一個体の同一領域から行動課題の訓練セッションをまたいで、おおよそ 300 程度の多細胞神経活動を記録する。ダイナミクスの推定には、RNN (リカレントニューラルネットワーク) を用いて多細胞神経記録の背後にあるダイナミクスを推定する手法である LFADS (Latent Factor Analysis via Dynamical System; Pandarinath et al., *Nat. Methods*, 2018) を用いる。記録している細胞は変わっていくが、領域をまたぐほどに大きく記録場所が変化しないため、多細胞神経活動の背後にあるダイナミクスが全く違うものにはならない。数百の細胞からであれば、記録する細胞がある程度入れ替わっても、安定したダイナミクスの推定が可能である (Pandarinath et al., *Nat. Methods*, 2018)。

具体的な行動課題としては、仮想現実環境を用いた学習を行う。ラットが仮想のアリーナ上を歩くと、様々な記号が現れるが、特定の記号の場所で口の前にあるポートから報酬として水が出るという仕組みである。記号の相対的な位置などは試行ごとに変更し、記号と報酬を関連付ける。ラットは始め課題を理解できないため、ランダムな記号に至り、偶然報酬を得るという経験を積む。しかし、どこかで記号と報酬の関連に気づき、記号を選ぶようになる。行動指標としては、報酬を得るまでの時間を取る。試行錯誤の結果、報酬を得るまでの時間が劇的に縮まる時、記憶が形成されるときに脳内のダイナミクスとしてどのような変化が起きるかを調べる。

4. 研究成果

新しい環境で試行錯誤をし、新たな記憶を形成するというプロセスは、動物にとって非常に重要な機能である。しかし、学習中、まさに動物の行動が変化する瞬間に神経活動のダイナミクスがどのように変化するのかは、まだ十分に明らかでない。本研究の目的は、哺乳類の生体脳から長期的に記録を取り、そのダイナミクスを長期間にわたって推定し、記憶が形成され、固定化するリアルタイムな過程を単一細胞解像度の神経活動ダイナミクスとして捉えることである。まず、ニューロピクセル電極を用いて、慢性記録を行うために、安定した電極の保持を可能とするソケットの開発を行った。すでに海外で開発され、論文として発表されているものもあるが、より小型で汎用性があり、また埋め込み後のプローブの不調にも対応可能なものを作成した。(神戸大学大学院・医学研究科・薬理学分野古屋敷智之先生らとの共同研究)。ニューロピクセル電極は、記録の開始時に、ヘッドステージとのコネクションエラーが起こることがある。従来の慢性埋め

込み用のソケットは電極を埋め込んだ後にヘッドステージとの取り外しができない構造となっており、埋め込んだ後にコネクションエラーが起きると対応することが困難であった。この問題に対応するため、プローブそのものを治具と固定し、ヘッドステージは記録開始時に都度取り付けることができる構造とした。また、記録をしていないときにラットが頭を触って電極を触る場合があり、電極の保護のためにスクリーキャップ構造を採用した。これらは3Dプリンタを用いた試用段階であり、今後も検討を続ける。

ニューロピクセル電極を留置する際に骨表面からの正確な脳座標の決定が重要であるため、実験に使用する Long-Evans ラットを用いて、脳定位アトラスを作成した。ラットについて既存のアトラスは Wistar ラットに関するものが多く、これに従って手術をした際に、前後軸方向で多少ずれが起きることがあった。この問題を解決するために、Long-Evans ラットを用いてアトラスを作成した。アトラスの作成のためには骨表面の座標系に基づき、生体の状態で長さを測り、目印を打つ必要があり、数ミリメートルの間隔を置いて蛍光塗料であるテトラメチルインドカルボシアニン ペルクロラート (DiI) を塗布した注射針を挿入し、次いで 4%パラホルムアルデヒド水溶液を用いて還流固定を行った。ピプラトームを用いて、50 マイクロメートル厚の切片標本を作製し、針の位置から収縮率を推定し、グリッド上に脳アトラスを作成した。ラットでは前交連の交差部がほぼブレグマの下にあることは共通しているが、脳梁が分かれて小鉗子と呼ばれる構造に移行する部位である脳梁膝と呼ばれる構造が Long-Evans ラットでは Wistar ラットよりもややブレグマ寄りであることが分かった。これらの結果をまとめて、玉川大学脳科学研究所紀要第 15 号に発表した。

実験課題における新規環境の導入のために、仮想現実環境を用いた行動課題の開発を行った。3次元モデル作成ソフトウェアである Unity や行列計算用の汎用ソフトウェアである Matlab を用いた開発を進めたが、他プロジェクトで Phenosys 社製 Jetball という仮想現実環境の専用装置を導入したため、これを援用し、専用のソフトウェアを用いて継続して開発を行った。また、研究室で採用していた頭部固定器具は仮想現実環境の装置にはそのまま適用することはできなかったため、頭部固定用の治具を仮想現実環境装置に適するよう改良した。実際に動物を載せて探索課題の訓練を行った。

自由オペラント条件付けを行った動物の内側前頭前野からニューロピクセル電極を用いた計測を行った。動物 1 匹あたり 300 程度の神経ユニットを単離し、その神経活動を解析した。神経ユニットの活動には、運動と同期する神経活動、報酬シグナルと同期する神経活動が見られた。また、これらの神経活動を主成分分析し、神経多様体について解析を行った。また、相互相関数を用いて、神経活動の機能的結合を推定した。当該自由オペラント条件付け課題は保持期間、消去期間、復位期間からなり、それらの期間での神経活動を比べた。

集団的神経活動のダイナミクスをとらえる(モデル化する)方法としてはリカレントネットワークを使用した。LFADS を改良し、記録済みの急性実験のデータを用いて、オートエンコーダーとしての性能を評価し、その中間表現により動物行動の予測を行うことを確認した。

上記の自由オペラント課題のデータにおいて、保持期間と復位期間という、消去期間を挟んで似たような行動をとる 2 つの期間のデータを用い、神経多様体の比較を行った。

このように、新規環境での新規記憶形成に関わる実験系に必要な技術開発を多く行い、この分野の創成に寄与するところが大きいと思われる。今後もこれらの開発を進め、記憶形成過程の解明に向けて研究を発展させる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Agetsuma Masakazu, Sato Issei, Tanaka Yasuhiro R, Carrillo-Reid Luis, Kasai Atsushi, Arai Yoshiyuki, Yoshitomo Miki, Inagaki Takashi, Hashimoto Hitoshi, Nabekura Junichi, Nagai Takeharu	4. 巻 -
2. 論文標題 Activity-dependent organization of prefrontal hub-networks for associative learning and signal transformation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/2021.08.31.458461	査読の有無 無
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 該当する

1. 著者名 Kuramoto Eriko, Tanaka Yasuhiro R., Hioki Hiroyuki, Goto Tetsuya, Kaneko Takeshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Local Connections of Pyramidal Neurons to Parvalbumin-Producing Interneurons in Motor-Associated Cortical Areas of Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 eneuro	6. 最初と最後の頁 0567-20
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1523/eneuro.0567-20.2021	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 杉本翔哉、石田順子、田中康裕	4. 巻 15
2. 論文標題 ラット前脳の脳定位アトラス	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 玉川大学脳科学研究所紀要	6. 最初と最後の頁 19-27
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 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 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 杉本翔哉、石田順子、田中康裕
2. 発表標題 lar: Long-Evans系統ラットの脳定位アトラスの作成
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 揚妻 正和、佐藤 一誠、田中 康裕、笠井 敦司、新井 由之、吉友 美樹、橋本 均、鍋倉 淳一、永井 健治
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44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小口 峰樹、ショウ嘉森、吉岡 敏秀、田中 康裕、井上 謙一、高田 昌彦、菊水 健史、野元 謙作、坂上 雅道
2. 発表標題 課題遂行中のサル第一次視覚野からの微小内視鏡カルシウムイメージング
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 正水 芳人、蝦名 鉄平、田中 康裕、根岸 みどり、尾上 弘晃、竹内 昌治、松崎 政紀
2. 発表標題 生体脳に神経回路を創出するための技術開発
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 窪田 芳之、畑田 小百合、山口 登、モハメド アルサイド、田中 康裕、川口 泰雄
2. 発表標題 ラットの大脳皮質細胞へのシナプス入力特性
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 任 翔フン、植田 禎史、大塚 岳、田中 康裕、川口 泰雄
2. 発表標題 前頭皮質5層錐体細胞の皮質間投射多様性
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杉本 翔哉、田中 康裕
2. 発表標題 意思決定中の皮質-大脳基底核情報ダイナミクスの解明に向けて
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 篠塚徳崇、田中康裕、寺田晋一郎、畠野夏輝、松崎政紀
2. 発表標題 Layer 5 intratelencephalic neurons in the motor cortex stably encode learned goal-directed movement
3. 学会等名 新学術領域「脳情報動態」第3回国際シンポジウム（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田中康裕
2. 発表標題 in vivo 脳ダイナミクス研究の現在
3. 学会等名 東北大学電気通信研究所 共同プロジェクト研究・非線形ワークショップ 合同研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yoshito Masamizu, Teppei Ebina, Yasuhiro Tanaka, Midori Negishi-Kato, Hiroaki Onoe, Shoji Takeuchi, Masanori Matsuzaki
2. 発表標題 Development of techniques to create novel neural circuits
3. 学会等名 第83回応用物理学会秋季講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Eriko Kuramoto, Yasuhiro R. Tanaka, Hiroyuki Hioki, Tetsuya Goto, Takeshi Kaneko
2. 発表標題 Local Connections of Pyramidal Neurons to Parvalbumin-Producing Interneurons in Motor-Associated Cortical Areas of Mice
3. 学会等名 Neuro2022 (The 45th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society) (国際学会)
4. 発表年 2022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
研究協力者	杉本 翔哉 (SUGIMOTO Shoya)		

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
---------	---------