

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 1 日現在

機関番号：34310

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2016

課題番号：25560435

研究課題名(和文)海馬場所細胞の可塑性と樹状突起逆伝播スパイクの関係性の解析

研究課題名(英文) Analysis of relationship between hippocampal place cell plasticity and dendritic backpropagations

研究代表者

高橋 晋 (Takahashi, Susumu)

同志社大学・研究開発推進機構・准教授

研究者番号：20510960

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、樹状突起逆伝播スパイクと可塑性の関係性を解明するために、神経細胞活動や脳波を安定的に記録するとともに、特定の神経細胞を選択的に刺激する技術を開発した。電極留置装置を独自に設計し、脳深部マルチニューロン活動・局所脳波記録用電極、刺激用光ファイバを頭部固定し、それぞれを独立に可動できるマイクロドライブを確立した。そしてこの技術を活用し、様々な周波数でパルバルブミン(PV)陽性細胞を操作したところ、特定の周波数帯で錐体細胞の活動頻度やコヒーレンスを上昇させることができた。今後、本手法を用いて樹状突起活動を操作することで、樹状突起逆伝播スパイクと可塑性の関係性を解明する予定である。

研究成果の概要(英文)：To decipher the relationship between plasticity and dendritic backpropagations of hippocampal place cells, we developed a novel technique that selectively stimulates specific types of neurons and records both neuronal and EEG activities simultaneously. The core of the technique, called microdrive, is capable of independently moving recording electrodes and optic fibers for optical stimulation. Using the microdrive, we activated the activity of parvalbumin (PV) positive neurons at some frequencies. The results suggested that the firing rates of pyramidal neurons and coherence between stimulation pattern and pyramidal cells' firings increased within specific frequency ranges. Using the present method to manipulate dendritic backpropagations, we will elucidate the relationship between plasticity and dendritic backpropagations.

研究分野：脳計測学

キーワード：場所細胞

1. 研究開始当初の背景

脳切片標本を対象とした電気生理学的研究と計算論的研究は、単一ニューロンの細胞体と樹状突起が異なる役割を持ち、それらの情報処理の結果として細胞体からスパイクが出力されることを示してきた。また、最近では細胞体から樹状突起へ向かい逆伝播するスパイクが発見され、その樹状突起逆伝播スパイクと可塑性との関係性が示唆されている。しかし、樹状突起逆伝播スパイクが、実際に情報処理をしている際のニューロン活動の可塑的变化に関与しているかどうかは、まだわかっていない。本研究は、独自の斬新な実験技術により、行動中の動物の脳内で、細胞体と樹状突起それぞれの情報処理を区別し解析しようとするものである。このような研究は国内外共にまだない。

すでに本研究代表者は、探索課題を行っているラット海馬内のマルチ(多数)ニューロン活動を解析することにより、場所情報を表現する場所細胞において、樹状突起が受け取った散漫な場所情報が、細胞体から出力されるまでに特定の場所を示す特異的な情報に変換されることを明らかにした。本研究はその成果をふまえ、単一ニューロンの細胞体と樹状突起それぞれの活動を最先端のマルチニューロン活動記録法により弁別する革新的脳計測法を開発し、樹状突起逆伝播スパイクの実態を明らかにしようとするものである。またそこから、脳における情報処理とそのメカニズムについて、従来には無い斬新な視点を提供しようとするものである。

本研究は、ニューロン活動の記録、情報理論的な解析、動物の行動分析、など、神経生理学、計算論的神経科学、情報工学、実験心理学という異分野の技術を結集し協調させることで初めて達成することができる。つまり、多元的な研究からなる融合的研究分野を創出するという特色をもつ。本研究が達成されれば、脳切片標本から得られた知見と、実際に情報処理をしている脳内での知見を結びつけ、脳内情報処理に新たな視点を提供できる。

2. 研究の目的

本研究は、ラットが新規な場所情報を獲得する過程で起こる海馬 CA1 野内の場所細胞の活動に着目し、その可塑的变化に関与する樹状突起逆伝播スパイクの役割について解明することを目指す挑戦的な試みである。同時に本研究は、多様な情報に対応し柔軟に活動するニューロンの実態を実験的に明らかにすることで、既存の情報科学的モデルに新たな神経科学的知見を提供することも目指す。

3. 研究の方法

マルチ(多数)ニューロン活動を長期間安定して記録する方法について、電極の設置方法や手術法を中心に改良する。同時に、マルチ(多数)ニューロン活動を分離するスパイク・ソーティング法についても改良することで、細胞体と樹状突起それぞれの活動を弁別する精度を向上させる。そして、実際にラットが新規に場所を認知する課題を遂行している時に、海馬 CA1 野からマルチニューロン活動を記録し解析を進める。そして、単一ニューロンの細胞体から樹状突起に逆伝播するスパイクと細胞体から発生するスパイクそれぞれが、どのように場所情報表現の可塑的变化に関係しているのか、明らかにしていく。

4. 研究成果

本研究を推進するには、神経細胞活動や脳波を安定的に記録するとともに、特定の神経細胞を選択的に刺激する技術が必要不可欠である。そこで、マイクロドライブ(電極留置装置)を独自に設計・開発した。当初計画からの記録・刺激部位変更へ迅速に対応するため、短期的にプロトタイプを作製する体制を整えた。そして、3D CAD(computer aided design)による設計と3Dプリンタによりプロトタイプを迅速に作成し、動物でのテスト実験を繰り返すことで、8本(総計32チャンネル:4チャンネル(Tetrode)×8)の脳深部マルチニューロン活動・局所脳波記録用電極、2本の刺激用光ファイバを頭部固定し、それぞれを独立に可動できるマイクロドライブを開発することができた(図1)。総重量は2.5gと小型軽量である。

更に、本研究で開発した脳活動記録・刺激技術の性能を評価するために、興奮性の錐体細胞に対して、アデノ随伴ウイルスを介して光感受性タンパク質チャンネルロドプシン2(ChR2)を特異的に発現させ、開発した刺激用光ファイバから照射した光に連動して興奮する神経細胞活動を記録した。動物が行動しているにも関わらず、光刺激から約3ms後に活動する錐体細胞の活動が観察でき、安定した刺激と記録が可能であると評価することができた。

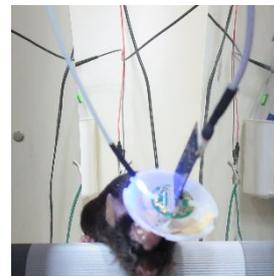


図1. 新規開発のマイクロドライブをマウス頭部に固定し、神経細胞活動を記録しながら、光刺激している様子。

チャープパターンを使って、光刺激のターゲットである抑制性のPV陽性細胞と興奮性の錐体細胞がどのようにその発火頻度を変調させるのかを調べた。その結果、PV陽性細胞は、周波数に依存せず、光刺激の強度が最も高いゼロ位相で活動頻度が高くなることがわかった(図2)。これは、PV陽性細胞が光刺激に正確に反応し、光により制御できていることを示している。

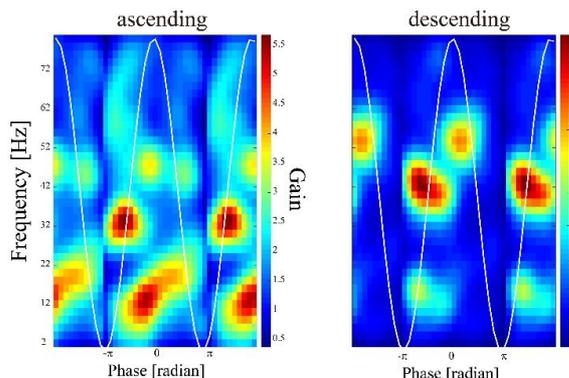


図2. PV陽性細胞活動のゲインマップ。左は周波数上昇時、右は周波数下降時。チャープパターンのゼロ位相でゲインが最大になることがわかる。ゲインは、無刺激時の活動度を基準として算出した。右のカラーバーはゲインを色調で表現している。

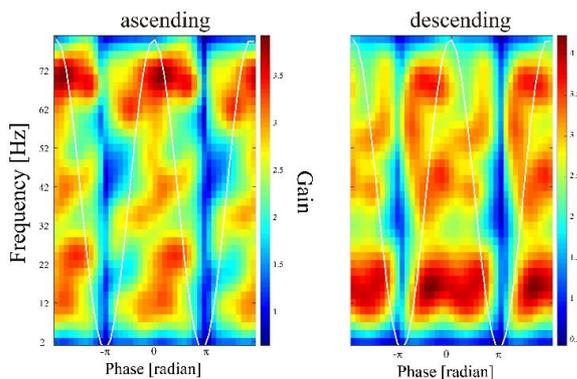


図3. 錐体細胞活動のゲインマップ。左は周波数上昇時、右は周波数下降時。チャープパターンの-90度位相でゲインが最大になることがわかる。

加えて、錐体細胞活動のゲインマップを調べたところ、図3に示すように上昇時には8~30Hz付近の刺激パターンの-90度位相でゲインが最大になることがわかった。これは、3-30Hzの周期で抑制刺激が入ると、錐体細胞の活動が特異的に上昇することを示している。これに対して、下降時は、40Hz付近の刺激パターンの-90度位相でゲインが最大になることがわかった。これは、40Hz付近の周波数を下降させながらPV陽性細胞を刺激すると、ある特定周波数帯の脳波パワーの影響を弱められる可能性を

示している。

次に、PV陽性細胞と錐体細胞それぞれが刺激パターンとどのような関連性があるのかをコヒーレンス解析を用いて調べた。ゲインは、神経細胞の活動タイミングという時間的な側面を無視した尺度であるが、タイミングが同期していれば、その信号は脳の広範な領域へ伝播する可能性がある。そこで、神経細胞活動と刺激パターンとのコヒーレンスを調べた。その結果、錐体細胞は10Hz-40Hzの刺激に対してコヒーレンスが高くなるのに対して、介在細胞にはそのような傾向が見られなかった。しかし、これだけでは周波数そのものに対するコヒーレンスが影響しているのか、周波数が持続するリズムが重要なのか不明である。そこで、次にホワイトノイズに0Hz~130Hzのバンドパスフィルターを適用したノイズを作成し、これを刺激パターンとした実験を行った。その結果、チャープパターンのような周波数特異的なコヒーレンス上昇は見られなかった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文)(計15件)

Ishino, S., Takahashi, S., Ogawa, M., Sakurai, Y., (2017),

“Hippocampal-prefrontal theta phase synchrony in planning of multi-step actions based on memory retrieval”, *European Journal of Neuroscience*, In Press. (査読有)

Mochizuki, Y., Takahashi, S., Richmond, B.J, Shinomoto, S. 他50名(2016), “Similarity in Neuronal Firing Regimes across Mammalian Species”, *Journal of Neuroscience*, Vol.36 (21), 5736-5747 (査読有)

Oh, Y.M., Karube, Y., Takahashi, S., Kobayashi, K., Takada M., Uchigashima, M., Watanabe, M., Nishizawa, K., Kobayashi, K., Fujiyama, F (2016), “Using a novel PV-Cre rat model to characterize pallidonigral cells and their terminations”, *Brain Structure and Function*, DOI:

10.1007/s00429-016-1346-2, (査読有)
Yamada, K., Takahashi, S., Karube, F., Fujiyama, F., Kobayashi, K., Nishi, A., Momiyama T. (2016), “Neuronal circuits and physiological roles of the basal ganglia in terms of transmitters, receptors and related disorders”, *Journal of Physiological*

Sciences, Vol. 19(6), 425-440 (査読有)
高橋 晋, (2016) . 海馬にある場所細胞群の活動から意図した移動行動を解読する. *Clinical Neuroscience*, 34(2):164-167 (査読無)
Takahashi, S., (2015) Episodic-like memory trace in awake replay of hippocampal place cell activity sequences, *eLife*, 4: e08105. (査読有)
DOI:10.7554/eLife.08105
Nakazono, T., Sano, T., Takahashi, S., and Sakurai, Y., (2015) Theta oscillation and neuronal activity in rat hippocampus are involved in temporal discrimination of time in seconds, *Frontiers in Systems Neuroscience*, 9:95. (査読有)
DOI:10.3389/fnsys.2015.00095
高橋 晋, 藤山文乃, (2015) 大脳基底核を巡る伝導路. *Clinical Neuroscience*, 33(7):767-771. (査読無)
Fujiyama, F., Takahashi, S., Karube, F. (2015) Morphological elucidation of basal ganglia circuits contributing reward prediction. *Frontiers in Neuroscience*, 9:6. (査読有) DOI:10.3389/fnins.2015.00006
高橋 晋, (2014) 脳内ナビゲーション・システム 場所細胞と格子細胞の発見, 現代化学, 525, 22-26. (査読無)
Sakurai, Y., Song, K., Tachibana, S., Takahashi, S., (2014) Volitional enhancement of firing synchrony and oscillation by neuronal operant conditioning: interaction with neurorehabilitation and brain-machine interface. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 2014, 8:11, pp.1-11. (査読有)
DOI:10.3389/fnsys.2014.00011
Terada S., Takahashi S., and Sakurai Y., (2013) Oscillatory interaction between amygdala and hippocampus coordinates behavioral modulation based on reward expectation. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 7:177, pp.1-12. (査読有) DOI: 10.3389/fnbeh.2013.00177
Takahashi, S., (2013) Exploring the neural substrate for supporting episodic memory in the hippocampus from a place cell perspective, *Japanese Psychological Review*, Vol.56, No.2, pp.186-200. (査読有)
Takahashi, S., (2013) Hierarchical organization of context in the hippocampal episodic code, *eLife*, 2: e00321, (査読有)
DOI:10.7554/eLife.00321

Sakurai, Y., Nakazono, T., Ishino, S., Terada, S., Yamaguchi, K., Takahashi, S. (2013) Diverse synchrony of firing reflects diverse cell-assembly coding in the prefrontal cortex., *Journal of Physiol. (Paris)*, Vol.107, pp.459-470. (査読有)
DOI:10.1016/j.jphysparis.2013.05.004

[学会発表](計28件)

吳 胤美, 苅部 冬紀, 高橋 晋, 小林 憲太, 高田 昌彦, 小林 和人, 藤山 文乃 “Using a novel PV-cre rat model to characterize pallidonigral cells and terminations”, 第122回日本解剖学会 総会・全国学術集会, 長崎大学, (長崎県・長崎市)(2017年3月28日)
Machino, Y., Takahashi, S., Sakurai, Y., “Hippocampal-prefrontal interaction during original task learning and relearning”, *Society for Neuroscience meeting*(SanDiego, USA)(2016年11月15日)
Nakazono, T., Takahashi, S., Sakurai, Y., “Learning stages in a rule switching task affects theta-gamma couplings in rat hippocampus”, *Society for Neuroscience meeting* (SanDiego, USA)(2016年11月14日)
Song, K., Takahashi, S., Sakurai, Y., “Volitional modulation of neuronal activities among multiple neuron groups via neuronal operant conditioning”, *Society for Neuroscience meeting* (SanDiego, USA)(2016年11月14日)
宋 基燦, 高橋 晋, 櫻井 芳雄 “ラット皮質における随意的発火調節のニューロン集団間での転移”, 第39回日本神経科学大会, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)(2016年7月22日)
水谷 和子, 苅部 冬紀, 高橋 晋, 小林 憲太, 藤山 文乃 “マウス淡蒼球外節における Neurokinin-1 受容体陽性細胞の形態学的・電気生理学的性質を解明する”, 第39回日本神経科学大会, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市) (2016年7月21日)
町野 友理, 高橋 晋, 櫻井 芳雄 “ラットの海馬・前頭前野における再学習中の神経機構”, 第39回日本神経科学大会, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市) (2016年7月21日)

高橋晋, 小林 憲太, 苅部 冬紀, 藤山文乃 “パーキンソン病モデルマウスの一次運動野における光遺伝学を活用した神経細胞活動の操作”, 第 39 回日本神経科学大会, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)(2016年7月20日)

呉 胤美, 苅部 冬紀, 高橋晋, 小林 憲太, 高田 昌彦, 小林 和人, 藤山 文乃 “淡蒼球外節から黒質緻密部ドーパミンニューロンへの抑制性入力を解明する”, 第 39 回日本神経科学大会, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)(2016年7月20日)

高橋 裕美, 廣川 純也, 高橋晋, 櫻井芳雄 “報酬確率学習課題中の海馬における神経表象”, 第 39 回日本神経科学大会, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)(2016年7月20日)

町野友理, 高橋晋, 櫻井芳雄 “再学習中の想起に関わる神経メカニズム”, 第 93 回日本生理学会大会, 札幌コンベンションセンター(北海道・札幌市)(2016年3月24日)

Song, K., Takahashi, S., Sakurai Y., “Transfer of operantly conditioned firings between different neuron groups with BMI in rats”, *Society for Neuroscience meeting* (Chicago, USA) (2015年10月21日)

高橋晋, “海馬場所細胞群の活動リプレイは記憶に基づくナビゲーション計画を表現する”, 第 38 回日本神経科学大会, 神戸国際会議場(兵庫県・神戸市)(2015年7月30日)

中園智晶, 高橋晋, 櫻井芳雄 “ルール学習中のラット海馬におけるシータガンマ・カップリングはガンマ波のタイプによって異なる”, 第 38 回日本神経科学大会, 神戸国際会議場(兵庫県・神戸市)(2015年7月30日)

中園智晶, 高橋晋, 櫻井芳雄 “ルールスイッチングにおけるラット海馬のシータ・ガンマカップリング”, 第 24 回海馬と高次脳機能学会, 岐阜大学(岐阜県・岐阜市)(2015年10月11日)

Yamaguchi, K., Takahashi, S. and Sakurai, Y., (2014). Timed pauses of simple spikes and up-and-down patterns of deep cerebellar nucleus activity code cerebellar temporal processing during voluntary movement tasks, *Society for Neuroscience meeting, Washington, DC (USA)*, (November 18, 2014).

Ishino, S., Takahashi, S. and Sakurai, Y., (2014). Hippocampal-prefrontal coordination is involved in recall of

learned sequences in rats, *Society for Neuroscience meeting, Washington, DC (USA)*, (November 19, 2013).

高橋 晋 (2014). パーキンソン病症状を改善する閉回路式脳深部刺激法の開発に向けた試み, 第 37 回日本神経科学大会, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市), (2014年9月12日).

立花 湘太, 高橋 晋, 櫻井 芳雄(2014). 衝動性の制御における内側前頭皮質の機能と可塑性を解明するためのブレインマシン・インターフェイス, 第 37 回日本神経科学大会, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市), (2014年9月13日).

宋 基燦, 高橋 晋, 櫻井 芳雄(2014). ラット皮質におけるオペラント条件づけした発火のニューロン集団間での転移, 第 37 回日本神経科学大会, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市), (2014年9月12日).

⑳ 石野 誠也, 高橋 晋, 櫻井 芳雄 (2014) 学習した系列の想起に関連する海馬-前頭連合野ネットワークの協調的活動, 第 37 回日本神経科学大会, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市), (2014年9月12日).

㉑ 中園 智晶, 高橋 晋, 櫻井 芳雄 (2014). ラット海馬シータオシレーションは時間間隔弁別に関与する. 第 37 回日本神経科学大会, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市), (2014年9月11日).

㉒ Nakazono, T, Takahashi, S. and Sakurai, Y., (2013). Rule switching affects theta-gamma coupling in rat hippocampus, *Society for Neuroscience meeting, San Diego, California (USA)*, (November 13, 2013).

㉓ 高橋 晋 (2013). 海馬は文脈情報を階層化してエピソードを形成する, 第 36 回日本神経科学大会, 国立京都国際会館(京都府京都市), (2013年6月21日).

㉔ 藤山 文乃, 中野 隆, 松田 和郎, 呉 胤美, 水谷 和子, 古田 隆寛, 苅部 冬紀, 高橋 晋, 雲財 知, 宇田川 潤, 金子 武嗣 (2013). ラット淡蒼球外節の投射様式を領域ごとに解析する, 第 36 回日本神経科学大会, 国立京都国際会館(京都府京都市), (2013年6月20日).

㉕ 水谷 和子, 苅部 冬紀, 高橋 晋, 雲財 知, 藤山 文乃(2013). ラット淡蒼球外節と直接路・間接路との関係を形態学的に解析する, 第 36 回日本神経科学大会, 国立京都国際会館(京都府京都市), (2013年6月20日).

㉖ 山口 健治, 高橋 晋, 櫻井 芳雄(2013). ラットのリズムに基づく行動中または時間間隔に基づく行動中に見られる小脳活動, 第 36 回日本神経科学大会, 国立京都国際会館(京都府京都市), (2013

年6月20日).

- ⑳ 寺田 慧、高橋 晋、櫻井 芳雄 (2013).
海馬と扁桃体間のガンマオシレーションの同期は報酬予測による行動調節に寄与する, 第36回日本神経科学大会, 国立京都国際会館(京都府京都市), (2013年6月20日).

〔産業財産権〕

取得状況(計1件)

名称: 生体装着用電極

発明者: 高橋晋

権利者: 同志社大学

種類: 特許

番号: 5771437

取得年月日: 2015年7月3日

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 晋 (TAKAHASHI, Susumu)

同志社大学・研究開発推進機構・准教授

研究者番号: 20510960