

海馬体神経回路における投射先特異的な情報伝達の解析

所属： 大阪市立大学 大学院医学研究科 神経生理学教室

助成対象者： 北西 卓磨

概要

脳の情報処理を理解するには、脳領域をまたいだ神経活動の流れを知ることが欠かせない。しかし、一般的な神経活動の計測法では、神経細胞の活動自体は把握できるものの、活動を計測している神経細胞が他のどの領域へと投射するのかは分からない。そのため、領域間の活動の流れを把握することは難しかった。そこで本研究は、自由に行動する動物の脳から多数の神経細胞の活動を一斉に計測し、さらに、それらの細胞の投射先を網羅的に同定する新たな脳計測技術の開発を進めた。さらに、この技術を記憶に重要な脳領域である海馬に適用し、海馬の持つ多様な情報が、数ある投射先の脳領域へとどのように分配されて伝達されるかを明らかにすることを目指した。

abstract

Information processing in the brain is supported by inter-regional information transfer. However, conventional techniques to record neuronal activity are incapable of identifying the projection targets of individual recorded neurons. We thus aimed to develop a new technique that allows us to monitor activities from a hundred of projection-identified neurons in freely-behaving rodents. By applying this technique to the hippocampus, which is a brain region crucial for memory formation, we also aimed to reveal how multimodal information processed within the hippocampus is transmitted to multiple downstream brain areas.

研究内容

背景

脳は複雑なネットワークからなる情報処理器官であり、さまざまな脳領域が相互作用することにより機能を発揮する。そのため、脳の情報処理を真に理解するには、脳領域をまたいだ神経活動の流れを知ることが欠かせない。たとえば、記憶に重要な領域である海馬は、空間・時間・情動などの情報を扱う。こうした多様な情報は、海馬からの数ある出力先（投射先）の領域にどのように分配されて伝達されるのだろうか？生体脳における一般的な神経活動計測法（細胞外計測法やカルシウムイメージング法）では、神経細胞の活動自体は把握できるものの、活動を計測している神経細胞が他のどの脳領域へと投射しているかは分からない。そのため、領域をまたいだ神経活動の流れを追跡することはできなかった。

目的

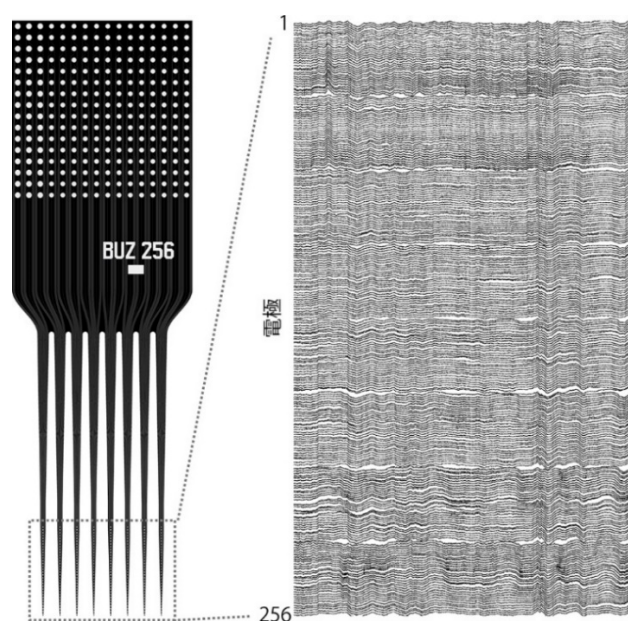
こうした現状を打ち破るため、本研究は、「自由に行動する動物の脳から多数の神経細胞の活動を一斉に計測し、さらに、それらの細胞の投射先を同定する技術」を開発することを目的とした。神経活動の計測にはマルチユニット記録という多細胞同時計測法（Kitanishi et al., *Neuron*, 2015）を用い、投射先の同定には投射経路選択的な神経活動の光操作（Kitanishi et al., *J Neurosci*, 2017）を用いる。

また、この計測技術を海馬台という脳領域に適用することで、この領域における情報の流れを追跡することを目的とした。海馬台は、海馬の出口に位置しており、下流の複数の領域へと投射する。海馬の持つ多彩な情報が、海馬台を經由して多領域へと分配されると予想されるが、「どの情報がどの投射先に伝達されるか」という分配の具体的な様子はこれまでまったく分かっていない。本研究で開発する技術により、個々の神経細胞の保持する情報が他のどの脳領域へと伝達されるかという、領域間情報伝達の根幹を理解することを目指した。

結果

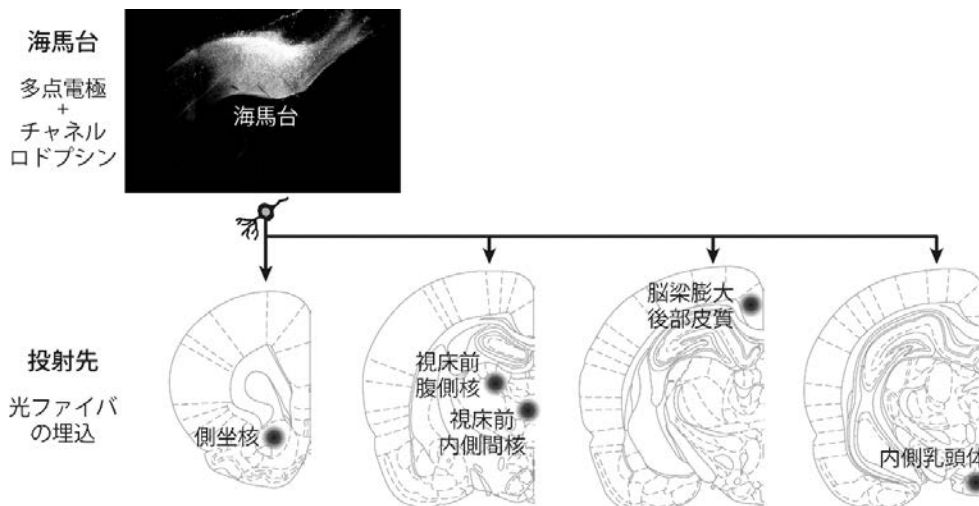
まず、行動中の動物における多細胞同時計測法（Mizuseki et al., *Nat Neurosci*, 2011）を確立し、100 個程度の神経細胞の活動を一斉に計測することが可能になった。具体的に

は、脳への多点電極の埋め込みをおこなう手術設備（脳定位固定装置、手術用実体顕微鏡、気化麻醉装置、ウイルス注入装置）、および多点同時記録システム（最大 512 チャンネルの多点同時記録電気生理装置、動物の行動を記録するためのビデオシステム、電気生理データおよび行動データの同期取込用のワークステーション、32, 64, 256 点のシリコンプローブ電極、3D プリンタで作成した電極保持のためのマイクロドライブ、各種の行動課題装置）をセットアップした。これらの機器を用いて、最大 256 点のシリコンプローブ電極を慢性的に留置し、行動中のラットの海馬から 100 個程度の神経細胞を同時に記録しつつ、動物の行動をカメラで撮影し、動物の位置と神経活動の関連を調べることが可能になった（下図は 256 点の電極を用いた大規模同時計測の例）。



続いて、活動を計測している神経細胞の投射先を光遺伝学的に同定するための検討をおこなった。本研究では、海馬台に、光により活性化するカチオンチャンネル ChR2 を発現させ、さらに、投射先領域には光ファイバーを介した光照射をおこなう。この光照射により ChR2 陽性の軸索で生じる発火活動を計測することで、海馬台の個々の神経細胞の投射先を同定する。この実験を実施するには、海馬台および海馬台の各投射先部位の脳座標を 100 マイクロメートル程度の空間解像度で知る必要がある。そこで、ウイルスベクターをもちいて海馬台から順行性標識をおこない（次ページ図）、海馬台から側座核・視床前腹側核・視床前内側間核・脳梁膨大後部皮質・内側乳頭体などの脳領域への投射位置を詳細に調べた。この検討により、海馬台に電極を刺入する座標と光ファイバーを挿入する座標を決定した。さらに、投射先の各領域に、軸索から細胞体へと逆行性にラベルをする色素やウイルスベクターを注入すると、記録しようとしている海馬台の投射細胞が逆行性に標識されること

を確認した。また、この逆行性標識により、投射細胞の細胞体は、海馬台の浅層-深層や遠位-近位の軸に沿って偏在していることが明らかとなった。したがって、海馬台の広い範囲を一斉に計測できる多点シリコンプローブ電極を用いれば、記録している細胞の海馬台のなかでの位置により、投射先をおおまかに推定できることが明らかとなった。



今後

これまでの結果から、海馬台のなかでの細胞体の位置により、おおまかに投射先を推定できることが分かった。現在は、さらに厳密に、単一細胞の精度で投射先を同定するため、海馬台の投射先に光照射をおこなう実験系の実装に取り組んでいる。この計測システムにより、行動中の動物において大規模な神経活動計測をおこないつつ、計測している個々の神経細胞の投射先を網羅的に同定することが可能になる。動物が、思考・行動するなかにおいて、ある脳領域からほかの複数の脳領域へどのような情報が送られるのかは、脳の情報処理を理解するために極めて重要である。にもかかわらず、こうした領域間の情報伝達に関する知見は驚くほどすくない。本研究はそのような状況を打開し、神経回路の新たな情報処理機構を見出す可能性がある。また、本研究で開発する技術は脳領域を問わず適用可能なため、脳研究のさまざまな局面に応用されて、投射先特異的な情報処理機構を明らかにするための基盤技術として活用されることが期待できる。

引用文献

1. Kitanishi T, Ujita S, Fallahnezhad M, Kitanishi N, Ikegaya Y, Tashiro A. Novelty-Induced Phase-Locked Firing to Slow Gamma Oscillations in the Hippocampus: Requirement of Synaptic Plasticity. *Neuron* (2015) 86:1265-76.
2. Kitanishi T, Matsuo N. Organization of the Claustrum-to-Entorhinal Cortical

Connection in Mice. J Neurosci (2017) 37:269-280.

3. Mizuseki K, Diba K, Pastalkova E, Buzsáki G. Hippocampal CA1 pyramidal cells form functionally distinct sublayers. Nat Neurosci (2011) 14:1174-81.

本助成に関わる成果物

[論文発表]

1. Kitanishi T, Ito HT, Hayashi Y, Shinohara Y, Mizuseki K, Hikida T. Network mechanisms of hippocampal laterality, place coding and goal-directed navigation. J Physiol Sci (2017) 67:247-258.

[口頭発表]

1. 北西卓磨、前障→嗅内野経路の機能解明、第2回脳と心の研究会（京都）2017年8月27日
2. 北西卓磨、Inter-regional interactions during novel experiences. 生理学研究所国際研究集会（岡崎）2016年12月6日
3. 北西卓磨、松尾直毅、前障－内側嗅内野の投射経路の機能解明、第109回近畿生理学談話会（大阪）2016年11月5日、A-11
4. 北西卓磨、松尾直毅、前障→嗅内皮質経路の機能解明、第25回海馬と高次脳機能学会（京都）2016年10月2日

[ポスター発表]

1. 北西卓磨、松尾直毅、Organization of the claustrum-to-entorhinal cortical connection in mice. 生理学研究所国際研究集会（岡崎）2016年12月5日

[その他]

1. 北西卓磨、アカデミック・オープンカフェ「記憶をになう神経回路メカニズムの探求」（大阪市立大学）2017年9月12日
2. 北西卓磨、大学院医学研究科特別講義「空間情報処理における海馬体－嗅内皮質の領域間情報伝達」、自治医科大学、2017年8月28日