

神経活動の多様性を増幅させるメカニズムを発見 ～発火前の一時的な抑制が決め手～

1. 発表者

池谷 裕二（東京大学大学院薬学系研究科薬学専攻 教授）

野口 朝子（東京大学大学院薬学系研究科薬学専攻 博士課程3年）

2. 発表のポイント

- ◆海馬の神経細胞において、発火直前の抑制性入力の強さがその後の発火タイミングを制御することを発見しました。
- ◆生体動物の海馬から複数の神経細胞の膜電位を同時記録する高度な技術を初めて実現したことで抑制性入力の時空間的多様性が明らかとなりました。この多様性が神経細胞の豊富な発火パターンの創出に貢献していると考えられます。
- ◆本研究は、脳のもつ多様な情報表現・保持機構の理解を通して、将来的には記憶形成や記憶障害の根本的な機序理解に貢献することが期待されます。

3. 発表概要

東京大学大学院薬学系研究科の野口朝子大学院生、池谷裕二教授らの研究グループは、sharp wave ripple（以下、SWR）（注1）と呼ばれる脳波にともなう多様な神経活動パターンの制御因子として、SWR直前の抑制性神経活動を提案しました。

脳を構成する多数の神経細胞は、適切な時空間パターンで活動することによりあらゆる情報を表現すると考えられています。このような活動パターンは発火シークエンスとして知られ、個々の神経細胞が適切なタイミングで発火することにより生じます。その多様性は脳が処理できる情報のバラエティにつながる重要な性質ですが、多様で柔軟な表現を可能にする機構は明らかではありません。

同研究グループでは、成体マウス海馬CA1野（注2）からの多細胞同時膜電位記録系を新たに構築し、SWRにともなう発火シークエンスの発生過程を初めて発火閾値下膜電位（注3）レベルで捉えました。その結果、SWR発生直前に見られる一過性の抑制性入力が見出されました。そして、この抑制性入力を生み出す抑制性神経活動の時空間的多様性が、発火シークエンスの豊富なパターンの創出に寄与することを提案しました。

本研究成果は2022年3月11日の*Nature Communications*誌（オンライン版）に掲載されました。

4. 発表内容

研究の背景と経緯

脳を構成する多数の神経細胞は、適切な時空間パターンで発火することによりあらゆる情報を表現します。時間的に制御された複数の神経細胞は、しばしば発火シークエンスと呼ばれる一連の発火を生み出し、集団として情報を符号化すると考えられています。発火シ

ークエンスは様々な脳領域において認知機能との関連が知られますが、中でも海馬 SWR にともなう発火シーケンスは、行動時の発火シーケンスを再生し記憶の固定化にかかわるとされています。この SWR にともなう発火シーケンスは、脳が処理する豊富な情報を体現するかのように SWR ごとに異なり、多様な時空間パターンを示します。こうした発火シーケンスのパターンは、個々の神経細胞の発火タイミングを SWR ごとに厳密に制御することによって生み出され、情報を正確に符号化し保持するために重要であるといえます。しかし、SWR ごとに多様な発火シーケンスのパターンを柔軟に制御するメカニズムは明らかではありませんでした。

研究方法と発見の内容

本研究グループは、個々の神経細胞が発火に至るまでの過程を反映する発火閾値下膜電位に着目し、生体動物の海馬において SWR にともなう発火シーケンスが生じる直前の膜電位変動を捉えることに挑戦しました。そのためには、SWR を含む脳波と同時に複数の神経細胞から膜電位を記録する必要がありますが、こうした記録を達成した例は未だありませんでした。これは、神経細胞の膜電位を記録するためにはわずか 10 μm ほどの細胞体に先端約 1 μm のガラス電極を密着させる必要があります、複数の神経細胞にアプローチすると電極の動きが干渉して記録の安定性が損なわれるためです。本研究グループは、多数の試行を重ねることで電極の刺入角度や速度等の厳密な検討と制御を行い、生体マウス海馬 CA1 野において SWR と最大 3 細胞の膜電位を世界で初めて同時に捉えました (図 1)。そして、特に SWR 直前の膜電位変動に焦点をあてて解析を行った結果、主に以下の点を明らかにしました。

(1) 個々の神経細胞への SWR 直前の抑制性入力が発火タイミングを制御する

SWR にともなう発火シーケンスの多様なパターンは、個々の神経細胞の発火タイミングが SWR ごとに厳密に制御されることによって生じます。そこで初めに、単一神経細胞の膜電位において、SWR ごとの発火タイミングの変動を説明する因子を探しました。その結果、海馬 CA1 野の神経細胞は、SWR 発生直前に一過的な抑制性入力を受けていることが分かりました (図 2A)。また、この抑制性入力を反映した膜電位変動、すなわち過分極 (注 4) の大きさは SWR ごとに毎回異なり、直前の過分極が大きいほど SWR にともなう発火タイミングが遅いという関係性が明らかとなりました (図 2B)。また、この抑制性入力を記録細胞において薬理的に阻害すると、SWR にともなう発火タイミングが早まることを示しました (図 2C)。これらの結果は、SWR 直前に個々の神経細胞が受け取る多様な大きさの抑制性入力が、SWR にともなう発火タイミングを制御することを示唆しています。

(2) SWR 直前の抑制性入力の時空間的多様性が SWR にともなう多様な発火シーケンスを制御する

SWR 直前の抑制性入力が発火タイミングを制御するという事は、多細胞の発火の順序にもこの抑制性入力の大きさがかわっている可能性が考えられます。そこで、同時記録した 3 細胞の膜電位を用いて、SWR 直前の過分極の大きさと SWR にともなう活動タイミングの関係性を解析しました。このとき、同一の SWR 中に 3 細胞全てが発火することは稀であったため、発火閾値に最も近い脱分極 (注 4) のタイミングを用いて解析しました。

その結果、SWR直前の過分極の大きさの順序とSWRにともなう脱分極タイミングの順序が一致する確率がチャンスレベルよりも高いことが分かりました（図2D）。これはすなわち、複数の神経細胞の中でも相対的に大きい抑制性入力を受ける細胞ほど、相対的に遅いタイミングで発火しやすいことを意味しています。また、同時記録した3細胞におけるSWR直前の過分極の大きさは、SWRごとに異なるだけでなく、同一のSWR中であっても細胞によって異なっていました（図2E）。これは複数の神経細胞が受け取る抑制性入力の大きさが時空間的に多様であることを意味し、この多様性がSWRにともなう発火シークエンスの豊富なパターンを創出することを示唆しています。

以上のように、池谷教授らは、SWRにともなう発火シークエンスが生じるまでの過程を膜電位レベルで捉えることに世界で初めて成功し、SWR直前の抑制性入力が多様な発火シークエンスのパターンの創出に貢献するという仮説を提案しました。個々の神経細胞への抑制性入力为上流の抑制性神経細胞の発火の結果であることを踏まえると、この仮説は、SWR直前の抑制性神経細胞の発火の時空間的多様性がSWRにともなう発火シークエンスのパターンを制御すると言い換えることができます。この可能性は、国際共同研究により、実際にSWRにともなう発火シークエンスと多数の抑制性神経細胞の発火を同時記録、解析することで検証されました。具体的には、SWR直前に高頻度で発火する抑制性神経細胞が存在し、その発火の度合いによってSWRにともなう発火シークエンスのパターンが異なることが分かりました。さらに、SWRにともなう抑制性神経細胞の発火は多様な時空間パターンを示すことが明らかとなりました。これらの結果は、当研究グループで得られた発見をさらに発展させ、SWRにともなう多様な発火シークエンスの制御素子として、抑制性神経活動の役割を示すものです。

今後の展開

本研究成果は、脳のもつ柔軟かつ多様な情報処理機構に関する新たなメカニズムを提案するものです。抑制性神経活動は、海馬において時空間的に均一ではなく、SWRごとに、また個々の神経細胞ごとに異なる多様な抑制性制御を生み出していることが示唆されました。このことは、従来時空間的に比較的均一な影響を与えると考えられてきた海馬の抑制性神経活動が、厳密な制御素子として発火シークエンスの多様性に大きく貢献していることを意味します。

SWRにともなう発火シークエンスのパターンは、海馬で表現される情報の「形」であり、これを正確に制御することは正常な記憶の獲得・固定化に不可欠です。さらに特定の神経細胞の発火シークエンスは、海馬に限らずさまざまな脳領域で見られる脳内の普遍的な現象です。その異常は記憶障害をはじめあらゆる高次脳機能不全に関与することから、発火シークエンスの制御機構を理解することは、記憶障害をはじめとした疾患の理解を深めるうえでも重要であるといえます。今後、抑制性神経活動の時空間的多様性の観点からさらなる発火シークエンスの制御機構が解明されることで、高次脳機能の発現機序の理解にとどまらず、将来的にはその機能異常をともなう疾患の根本的な治療法の確立に貢献することが期待されます。

<本研究の主な助成事業>

戦略的創造研究推進事業 ERATO 池谷脳 AI 融合プロジェクト（課題番号：JPMJER1801）、
科学研究費補助金 新学術領域研究「時間生成学一時を生み出すところの仕組み」(18H05525)、
Beyond AI 研究推進機構

5. 発表雑誌

雑誌：*Nature Communications*（3月11日オンライン版）

題目：Inhibition allocates spikes during hippocampal ripples

著者：Noguchi, A., Huszár, R., Morikawa, S., Buzsáki, G., Ikegaya, Y.（野口 朝子、ローマン・ハザール、森川 勝太、ユーリー・ブザキ、池谷 裕二）

DOI: 10.1038/s41467-022-28890-9

6. 問い合わせ先

東京大学大学院薬学系研究科 薬品作用学教室

教授 池谷 裕二（イケガヤ ユウジ）

〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1

Tel : 03-5841-4780（携帯：080-4158-0816） Fax : 03-5841-4786

E-mail : yuji@ikegaya.jp

7. 用語解説

注1 sharp wave ripple (SWR)

ノンレム睡眠時や安静時に海馬でよく観察される約 200 Hz の脳波。SWR の発生時には、直前の学習中に見られた発火シーケンスが再生され、記憶の固定化に重要な役割を果たしていると考えられています。

注2 海馬 CA1 野

海馬は大脳辺縁系の一部。CA1 野、CA2 野、CA3 野、歯状回などの亜領域に分けられ、長期記憶の形成や空間学習に重要な役割を果たしています。本研究では、SWR およびこれにともなう発火シーケンスが高頻度に見られることが知られる海馬 CA1 野から記録を行いました。

注3 発火閾値下膜電位

個々の神経細胞へのシナプス入力を反映し、発火の有無によらず絶えず揺らいでいます。これを記録するためには、わずか 10 μm ほどの細胞体に先端約 1 μm のガラス電極を密着させるという繊細な技術を要する。本研究では、生体動物の海馬からの多細胞同時膜電位記録

を初めて成功しました。

注4 脱分極 / 過分極

膜電位の中でも、主に興奮性 / 抑制生入力によって生じる変動のことを脱分極 / 過分極といいます。本研究では、**SWR** 直前に一過的な過分極の存在を発見しました (図 1A 左)。また、**SWR** にともなって 3 細胞全てが発火することは稀であったため、多細胞の解析には、発火タイミングの代わりに脱分極タイミング (図 2E の赤色) を用いました。

8. 添付資料 :

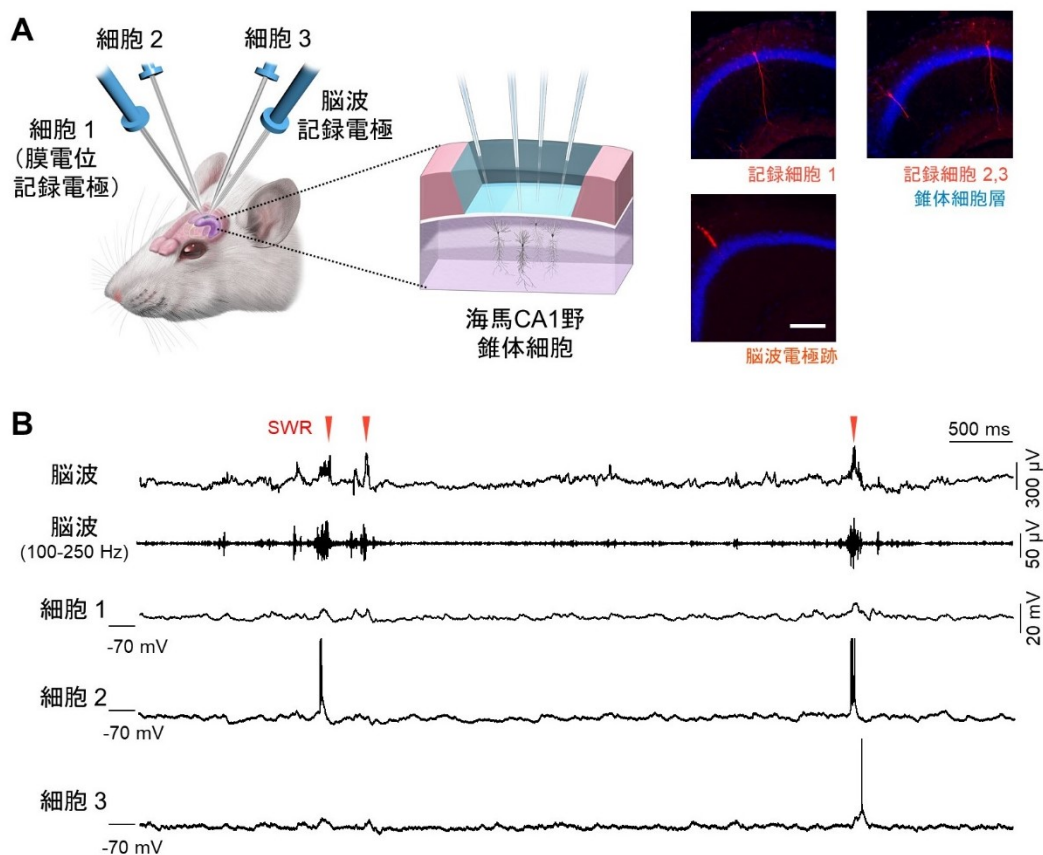


図1 海馬 CA1 野における脳波と 3 細胞の膜電位同時記録に成功

(A) 左 : 実験模式図。生体マウス海馬 CA1 野において、SWR を含む脳波と最大 3 細胞の膜電位同時記録を取得した。右 : 記録細胞と脳波記録電極位置の確認画像。記録細胞は biocytin (赤)、脳波記録電極跡は DiI (赤)、錐体細胞層は Nissl (青) により可視化。

(B) 記録した代表波形。上から、脳波、SWR の周波数帯域の脳波、および 3 細胞の膜電位。赤矢尻で SWR の発生タイミングを示した。

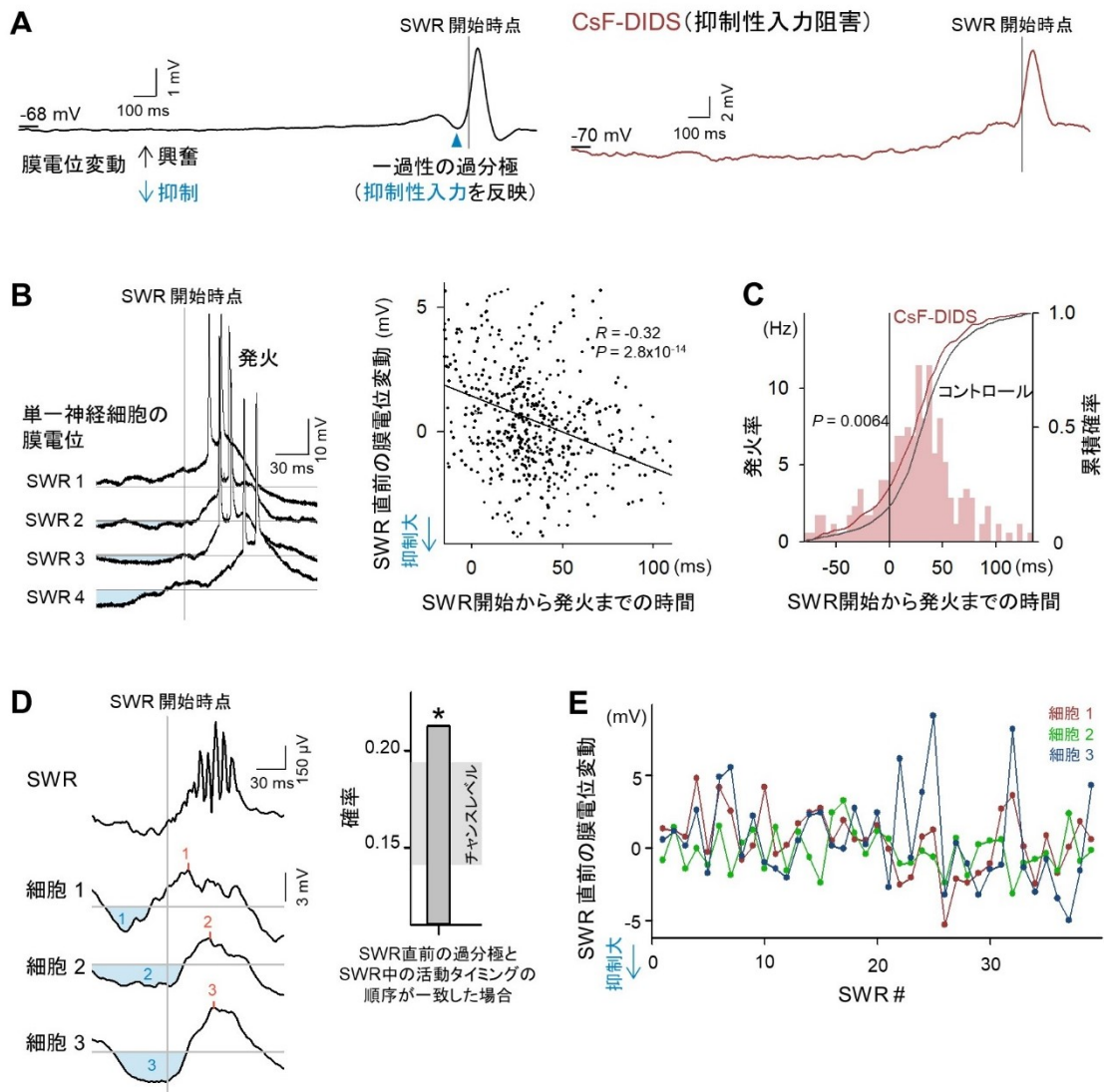


図2 SWR直前の多様な抑制性入力もSWRにともなう活動タイミングを制御する

(A) 全記録細胞のSWR前後の膜電位を平均したトレース。左：SWR直前に一過性の過分極を見出した。右：CsF-DIDS処置により薬理的に抑制性入力を阻害するとSWR直前の過分極が大きく減少したため、SWR直前に抑制性入力を受けていると結論付けた。(B) 左：単一神経細胞において、SWR直前の過分極（青色網掛け）が大きいほどSWRにともなう発火が遅い様子が見られる。右：SWR直前の膜電位変動とSWR開始から発火までの時間の関係性をSWRごとにプロット。有意な負の相関関係が得られた（全49細胞のデータを合わせている）。(C) CsF-DIDS処置により抑制性入力を阻害するとSWR開始から発火までの時間が有意に短縮された。(D) 左：同時記録した3細胞について、SWR直前の過分極の大きさの順序とSWRにともなう脱分極タイミングの順序が一致している例。右：3細胞の膜電位同時記録中に発生した全てのSWRうち、SWR直前の過分極の大きさとSWR中の脱分極タイミングの順序が一致した確率。チャンスレベルより有意に高いことから、複数の神経細胞について、SWR直前の抑制性入力の大きさの順に活動しやすいことが示唆された。(E) 同時記録した3細胞におけるSWR直前の膜電位変動のSWRごとの挙動。SWR直前の抑制性入力の大きさは時空間的に多様であることが示唆された。