

# 研究報告書

## 「高速光操作による記憶行動を支える脳回路同期機構の解明と回復」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 2017 年 4 月 ~ 2020 年 3 月

研究者: 五十嵐 啓

### 1. 研究のねらい

本研究は、記憶行動中のマウス記憶回路(嗅内皮質)から、光遺伝学を用いて脳活動を記録し、その回路メカニズムを理解すること、さらに、光遺伝学を用いて脳活動を操作し、失調した記憶回路の補償を行うことを目的とした。

主として以下の3つの目的を掲げた。

- 1) 光遺伝学を用いた optotag 記録法を用いて、細胞種特異的な記憶回路間の情報交換メカニズムを解明すること(スパイク活動、オシレーション)
- 2) 記憶疾患であるアルツハイマー病のモデルマウスで、どのような回路活動の失調が生じているのかを明らかにすること
- 3) アルツハイマー病のモデルマウスで失調している回路活動を、光操作法を用いて補償すること

本研究は脳の記憶回路における情報交換メカニズムの解明と、脳深部刺激療法に代わる将来的な記憶障害疾患の治療法の発展に繋がることが期待された。

### 2. 研究成果

#### (1) 概要

上記3目的のうち、目的1と2については大きな成果が得られ、現在論文を執筆、投稿中である。目的3については現在実験を遂行中であり、今後2-3年のうちに成果が得られるものと期待される。以下、詳細を記す。

#### (2) 詳細

##### 研究テーマ(1)「光遺伝学 optotag 記録法を用いた、細胞種特異的な記憶回路間の情報処理メカニズムの解明」

本研究では、記憶を司る脳回路のなかでも、外側嗅内皮質における細胞種特異的な情報処理メカニズムの解明に焦点を当てて研究を行った。

我々はこれまでに、ラットがニオイ-場所連合学習を行う際に外側嗅内皮質の細胞がニオイ cue 特異的なスパイク発火活動を形成していくこと、この脳活動の形成が学習に必要であることを示した(Igarashi et al., Nature, 2014)。本研究では、この発火活動が外側嗅内皮質のどの細胞種によって担われているかを明らかにするため、optotag 記録法を用いて、細胞種特異的な記録を行った。外側嗅内皮質の layer 2 には、主に2種類の興奮性細胞が存在する。一方は Reelin および Sim1 を発現する fan cells, もう一方は Calbindin および Wfs1 を発現する pyramidal cells である。fan cell は海馬 CA3/dentate gyrus に投射していることが知られているが、pyramidal cell は海馬には投射していないことが最近の研究から明らかに

なり、この二つの細胞種の情報処理パターンを明らかにすることは重要だと考えられた。

我々はまず、Sim1-Cre マウスと Wfs1-Cre マウスを入手し、マウスに遂行可能な連合学習パラダイムの作成を行った。マウスはラットで用いたような free moving 課題の遂行が困難であることから、head-fix 条件下 go-nogo task を用いることにより、新規ニオイ群を go (sucrose water, licking) もしくは nogo (quinine water, no-lick) と連合させる記憶課題を開発した。

次に、Sim1-Cre マウスを用いて、fan cell がニオイ go-nogo 課題学習中にどのような発火パターンの変化を示すかを記録した。記録には、220um の optic fiber を 64 本の極小電極と貼り合わせたものを含む可動記録デバイスを用いた。マウスの外側嗅内皮質にまず channelrhodopsin2 を注入し、一週間後、記録デバイスを同じ部位に外科手術によって包埋した。数週間かけて電極を徐々に外側嗅内皮質に近づけ、複数の細胞からスパイク記録が行える状態にした。その後、optic fiber のもう一端に青色レーザー光源からの光を 5 ms 与え、それぞれの細胞においてスパイク活動が生じるかを検討した。その結果、一回の実験で得られる約 20 個の細胞から、1-5 個の細胞でレーザー誘因性のスパイク活動が得られた。この際、レーザー刺激後スパイクが発火するまでの latency が適切か、スパイクがレーザー刺激毎に得られるか等の検討を行い、Channelrhodopsin2 を発現していると推定される細胞のみを選別した。

これまでに、約 80 個の fan cell からの記録を行い、結果を解析したところ、以下の結果が得られた。まず、fan cell は、学習済のニオイにはほとんど応答しないことが明らかになった。一方、新規ニオイ群を導入して学習を行わせた際に、fan cell は発火し始めることが明らかになった。このとき、様々な発火様式を呈する fan cell が存在するが、既知の go-odor と新規 go-odor に応答する fan cell が約 11% 存在することが明らかになった。

次に、この go-odor 細胞の割合を、マウスが連合学習出来たセッションと出来なかったセッションで比較したところ、学習出来なかったセッションでは 0% に減少していた。さらに、principal component analysis を用いて 80 個の fan cell が学習の前後でニオイ提示時にどのような動態を示すのかの軌跡を検証したところ、学習の前では既知の go-odor と新規 go-odor に応答する fan cell が別々の軌跡を描いていた一方、学習後にはほぼ同一の軌跡を描くことが明らかになった。この結果は、fan cell が、go-odor というカテゴリーのニオイを同じように分類することが学習に必要であることを示唆している。

## 研究テーマ(2)「記憶疾患であるアルツハイマー病のモデルマウスにおける、回路失調メカニズムの解明」

本研究では、嗅内皮質の失調が原因となっているアルツハイマー病において、どのような活動失調が原因となっているのかを明らかにし、研究テーマ(3)への足がかりを作ること为目标とした。

嗅内皮質は解剖学的に、外側嗅内皮質と内側嗅内皮質に分けられる。外側嗅内皮質の神経活動パターンはこれまであまり明らかになっていないが、内側嗅内皮質の活動パターンはよく明らかになっており、グリッド細胞と呼ばれる細胞が存在することが知られている。そこで我々は、グリッド細胞の活動がアルツハイマー病モデルマウスでどのように失調している

のかを明らかにすることにした。理化学研究所脳神経科学研究センターの西道博士らが開発した Amyloid precursor protein ノックインマウス (APP-KI マウス) を入手し、海馬 CA1 における場所細胞と内側嗅内皮質におけるグリッド細胞から記録を行い、野生型マウスとの比較を行った。その結果、12 ヶ月齢 APP-KI マウスでは、海馬場所細胞は野生型マウスとあまり変化がないものの、内側嗅内皮質のグリッド細胞は劣化していることが明らかになった。さらに、海馬と内側嗅内皮質のどちらにおいても、fast gamma oscillations が減少していることが明らかになった。この結果は BioRxiv においてすでに発表しており、現在論文を投稿中である。

### 研究テーマ(3)「アルツハイマー病のモデルマウスで失調している回路活動の、光操作法による回復」

研究テーマ(2)において、fast gamma oscillations が行動中のマウス海馬・内側嗅内皮質において減少していることが明らかになったが、これ以前にも我々は麻酔下の APP-KI マウス内側嗅内皮質において fast gamma oscillations が減少していることを見いだした (Nakazono et al., Front Syst Neurosci, 2017)。この結果を踏まえ、光操作法を用いて、fast gamma oscillations を上昇させることを現在実験中である。

## 3. 今後の展開

今後は、研究テーマ(3)「アルツハイマー病のモデルマウスで失調している回路活動の、光操作法による回復」を進行させる予定である。

## 4. 自己評価

目的 1 と 2 についてはおおむね達成され、論文作成を行っており、良い成果を残すことが出来たと考えている。一方、目的 3 については、現在実験を遂行中であり、成果達成までにはさらに数年が必要である。研究体制として、人手が足りなかったことがこの原因と考えられ、実験補助員を積み増す必要があったと考えられる。

本研究は、記憶研究の基礎的な知識を活かし、光操作法を用いた病気の治療法を目指したことにその新規性がある。今後このような方向性は重要になると考えられ、さらなる研究が待たれる。

## 5. 主な研究成果リスト

### (1) 論文(原著論文)発表

1. Tomoaki Nakazono, Travis N Lam, Ayushi Y Patel, Masashi Kitazawa, Takashi Saito, Takaomi C Saido and Kei M Igarashi, Impaired In Vivo Gamma Oscillations in the Medial Entorhinal Cortex of Knock-in Alzheimer Model, Frontiers in Systems Neuroscience, 2017, doi: 10.3389/fnsys.2017.00048
2. Tomoaki Nakazono, Heechul Juna, Mathew Blurton-Jones, Kim N. Green, Kei M. Igarashi, Gamma oscillations in the entorhinal-hippocampal circuit underlying memory and dementia, Neuroscience Research, 2018, doi: 10.1016/j.neures.2018.02.002

3. Heechul Jun, Shogo Soma, Takashi Saito, Takaomi C Saido, Kei M Igarashi, Disrupted remapping of place cells and grid cells in knock-in model of Alzheimer's disease, BioRxiv, 2019, doi: 10.1101/815993

(2) 特許出願

研究期間累積件数: 0 件

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

1. (受賞) 三島海雲学術賞, 食の感覚を支える脳の香り認識・記憶機能の研究, 2017 年 7 月 10 日
2. (受賞) 安藤百福賞・発明発見奨励賞, 食の感覚を支える脳の香り記憶機構の研究, 2018 年 3 月 12 日
3. (受賞) New Vision Award (Donors Cure Foundation), アルツハイマー病研究, 2018 年 3 月 10 日
4. (口頭発表) Kei M. Igarashi, Parallel disruptions of entorhinal grid cells and hippocampal pattern separation in Alzheimer's disease, 日本神経科学大会(新潟, 2018 年 7 月 26 日)
5. (口頭発表) Kei M. Igarashi, Roles of LEC fan cells in associative learning, Sicily Spring Memory Meeting(2019 年 6 月 4 日)