

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 23 日現在

機関番号：82401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2016～2016

課題番号：16H07453

研究課題名(和文) 海馬脳波による自発的なシナプス抑圧の誘導

研究課題名(英文) Spontaneous synaptic depression induced by hippocampal ripples

研究代表者

乗本 裕明(Norimoto, Hiroaki)

国立研究開発法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・基礎科学特別研究員

研究者番号：40779568

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,500,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者は睡眠時に海馬で発生するsharp wave ripple(リップル波)がシナプス長期抑圧(リップル波)を誘導するという仮説を立てた。LTDとは、シナプスのつながりが弱まる可塑的变化のことである。「自発的にリップル波を発生するスライス標本」および「リップル波をオンライン検出し、阻害するシステム」という2つの実験系を駆使することにより、リップル波が一部の神経間のつながりを保持したまま、回路全体にはLTDを誘導していることを発見した。

研究成果の概要(英文)：The hippocampus is continuously bombarded with a barrage of stimuli and generate an almost unlimited number of memories throughout lifetime. Why can the hippocampus create a series of memories without memory confusion, using a limited number of synapses? We hypothesize that the hippocampus is intrinsically provided with an active neuronal process that eliminates engrams of unnecessary memories while the hippocampus collects new memories. Here we report that hippocampal sharp wave ripples (SWRs) during slow-wave sleep contribute not only to offline reactivation of a recently acquired memory, but also to erasing of the unnecessary memories by inducing synaptic depression. The depression was selectively induced in immature synapses. Furthermore, continuous closed-loop inhibition of SWRs disrupted subsequent spatial learning. These results provide substantial insights into the machinery underlying how the brain consolidate a series of memories using a limited number of synapses.

研究分野：神経薬理学

キーワード：海馬 シナプス可塑性 sharp wave ripple

1. 研究開始当初の背景

シナプス長期増強 (Long term-potential, LTP) は、可塑性の一種であり、長期にわたりニューロンからニューロンへ信号が伝達しやすくなる現象である。動物の行動・学習中には LTP が生じるため、古くから LTP は記憶・学習の素過程であると考えられている。しかし、先行研究において、海馬回路に LTP を誘導し続け飽和した状態にすると、マウスが新たに学習できなくなることが報告されている (Science 281:2038-2042, 1998)。つまり、生涯にわたって物事を学習し続けるためには、学習する際に生じた LTP が、その後何らかの機構により弱められなければならないことを示唆している。しかし、ニューロン間の結合を弱める (クールダウンする) プロセスは未解明のままである。

近年、この疑問の一部に答える知見が報告された。動物の睡眠時に、海馬や大脳皮質においてシナプス長期抑圧 (Long term-depression, LTD) が生じることが発見されたのである。LTD は、ニューロン間の情報伝達の効率が長期的に低下する現象である。これにより、学習とシナプス可塑性の謎が解決されたように見えるが、睡眠時に LTD が生じるメカニズムは不明である。通常、シナプスに LTD を誘導する際には「1 Hz、15 分間」の電気刺激をリズム的に与え続けなければならない。このような機構が生体内に備わっているとは考えにくいから、LTD は人工的な刺激によってのみ生じるアーティファクトであろうという意見が少なからずある。

こうした背景を受け、申請者は睡眠時に発生するリップル波が海馬回路に LTD を誘導しているのではないかと仮説を立てた。なぜならば、

- (1) リップル波は海馬回路に大規模な神経活動を誘導する
- (2) 学習直後の睡眠中に発生するリップル波の頻度は約 1 Hz であり、LTD が誘導され

る刺激頻度と類似している (申請者が取得したデータ、unpublished)

- (3) 海馬神経回路に人工的に LTP を誘導すると自発的にリップル波が発生するというシンプルな理由のためである。この仮説を検証するために、申請者は in vivo 標本および in vitro 標本を併用して以下に述べる研究計画を遂行する。

2. 研究の目的

本研究の目的は海馬 sharp wave ripple (以下リップル波) がシナプス可塑性に与える影響を明らかにすることである。リップル波は記憶の定着と密接に関わっていることが知られているが、そのメカニズムには不明な点が多い。申請者は睡眠時に発生するリップル波が不要な記憶情報を消去することにより、記憶定着の精度を高めていると仮説を立てた。申請者が開発したリップル波の発生を人工的に誘導および抑制する実験系を用いることで、リップル波と記憶の関係を、シナプス可塑性を通じて検証した。

3. 研究の方法

観察対象はマウス海馬から記録する電気応答およびシナプス形態とし、標本には生体マウス、及び研究代表者らが開発した自発的にリップル波を発生するマウス急性スライスを用いた。

(1) リップル波発生時のスパイン形態変化の観察

先行研究から、LTD が生じる際にはスパインが退縮することが報告されている。そこで、まずリップル波の発生に伴いスパインの形態がどのように変化するかを電気応答とスパインの形態を同時に記録することにより検証した。

(2) リップル波の阻害が学習に与える影響の検討

リップル波の発生だけを選択的に阻害する実験系を用いた。具体的にはリップル波の発生をオンラインで検出し、そのタイミングに合わせて神経回路の活動をチャンネルロドプシンという光活性化タンパク質を用いて抑制した。

上記に加えて、リップル波の発生を抑制すると LTD が誘導されなくなるかどうかを古典的な電気生理学実験を行うことにより確認した。

4. 研究成果

- (1) リップル波のみを発生する海馬急性スライス標本から、リップル波、およびスパインの形態を同時記録することに成功した。先行研究から、シナプスに LTD が誘導されると、スパインが縮小することが知られている。観察したスパインの体積の変化率を算出したところ、リップル波の発生に伴い増大するスパイン、縮小するスパインの両方が多数見られたが、平均すると退縮する傾向にあった。つまり、リップル波が LTD を誘導した可能性が高い。また、スパインは形態により機能が異なることが知られている。そこで、スパインの形を「Thin」、「Stubby」、「Mushroom」の3種類に分類した。すると、Mushroom 型はほとんど退縮しなかった。これは、シナプス選択的に LTD が誘導されていることを意味している。
- (2) LTD 誘導におけるリップル波の必要性を示すために、リップル波の発生だけを選択的に阻害する実験系を用いた。具体的にはリップル波の発生をオンラインで検出し、そのタイミングに合わせて GABA 性のインターニューロンを活性化することにより、リップル波発生時の錐体細胞の発火を抑制した。この手法を用い、リップル波の発生を阻害したときの fEPSP (神経間のつながりの指標)を観察した。

すると、徐々に fEPSP が低下するコントロール群に比べ、リップル波阻害群における fEPSP は減弱しなかった。本結果はリップル波と LTD の因果関係を示唆するものである。

- (3) 睡眠を剥奪したヒトにおいて、記憶の獲得段階に障害が出ることが知られている。代表者は、この睡眠剥奪による記憶獲得障害の原因がリップル波の誘導不全によるものなのではないかと仮説を立てた。まず、7時間連続で睡眠を剥奪したマウスに物体位置認識試験を行った。その結果、睡眠剥奪群は対照群と比べ記憶の獲得が障害された。この時の海馬の活動性を記録したところ、睡眠剥奪前、および正常に睡眠をとらせたマウスに比べ、興奮性が有意に上昇していた。次に、光遺伝学的手法を用いてマウスのリップル波を7時間連続で阻害し続けたところ、行動試験および海馬の活動性ともに、睡眠剥奪群と類似した結果が観察された。

現在以上の成果を論文としてまとめ、投稿中である。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

名称:

発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

チームリーダー

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

乗本裕明（Norimoto Hiroaki）

理化学研究所 脳科学総合研究センター
基礎科学特別研究員

研究者番号：40779568

(2)研究分担者

（ ）

研究者番号：

(3)連携研究者

（ ）

研究者番号：

(4)研究協力者

藤澤茂義（Fujisawa Shigeyoshi）

理化学研究所 脳科学総合研究センター