

平成 21 年 5 月 25 日現在

研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18730482
 研究課題名（和文） 海馬依存記憶の消去に関わる脳内機構の解明
 研究課題名（英文） Study of brain mechanism in extinction of hippocampal dependent memory
 研究代表者 坂本 敏郎 (SAKAMOTO TOSHIRO)
 独立行政法人 沖縄科学技術研究基盤整備機構・記憶と学習の分子神経生物学
 ユニット・研究員
 研究者番号：40321765

研究成果の概要：

瞬目反射条件づけは、小脳と海馬を必要とする課題である。この課題における消去の脳内機構を調べる前段階として、条件づけの獲得・保持に関わる小脳の役割を検討した。小脳核にGABAA受容体のアゴニスト・ムシモール(MSC)とアンタゴニスト・ピクロトキシン (PTX)を投与して、瞬目反射条件づけを行った。学習前の動物に薬物を投与した獲得条件、学習した後に薬物を投与した保持条件の両方において、MSC投与とPTX投与はどちらもこの学習の獲得と保持を有意に障害した。一連の結果は、小脳核のGABAA受容体が瞬目反射条件づけの獲得と保持に重要な役割を果たしていることを示している。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,400,000円	0円	1,400,000円
2007年度	1,100,000円	0円	1,100,000円
2008年度	1,100,000円	330,000円	1,430,000円
年度			
年度			
総計	3,600,000円	330,000円	3,930,000円

研究分野：社会科学

科研費の分科・細目：心理学・実験心理学

キーワード：海馬・消去・瞬目反射条件づけ、小脳

1. 研究開始当初の背景

連合学習によって形成された反応は、電気ショックや報酬などの強化刺激（無条件刺激）を提示しないと、しだいに減弱し生

起しなくなる。この現象は消去と呼ばれている。消去が生起するには脳内での新しい遺伝子の発現および蛋白質合成が必要なことから、消去は単なる記憶の忘却とは異なる。獲得した反応を積極的に制

止する新しい学習である。近年、記憶形成の脳内機構は明らかにされつつあるが、消去の脳内機構は不明である。恐怖条件づけ（文脈恐怖）、瞬目反射条件づけ（痕跡条件づけ）の2課題は、海馬を必要とする学習・記憶課題である。マウスやラットでは、獲得された記憶は1-2日の間、海馬で保持されるが、約4週間後には大脳皮質に移行する (Frankland et al., 2004; Maviel, et al., 2004; Takehara, et al., 2003)。このように海馬依存記憶の獲得、保持の脳内機構は明らかにされているが、海馬依存記憶の消去に関わる脳部位は不明である。さらに記憶の担当部位の移行に伴い、消去に関与する脳部位が変化するか否かも不明である。

そこで本研究では、海馬依存記憶の2つの課題（恐怖条件づけ、瞬目反射条件づけ）に着目し、以下の2点について消去の脳内機構を薬理的に詳細に解析する (1) 海馬依存記憶の消去に関わる脳部位。(2) 海馬依存記憶の担当部位の移行に伴い、消去に関わる脳部位が移行するかどうか。

2. 研究の目的

本研究では、生体内で重要な役割を果たす酵素である ERK (Extra-cellular signaling regulated kinase) に着目し、海馬内の ERK が海馬依存記憶である文脈恐怖条件づけの消去に果たす役割を検討した。次に ERK のサブタイプ ERK 1 を欠損した遺伝子組み換えマウスを用いて、恐怖条件づけを行い、24 時間後、48 時間後、1 週間後に消去テストを行い、消去に果たす ERK 1 の役割を検討した。

さらに、瞬目反射痕跡条件づけの消去機構を調べる前段階として、瞬目反射遅延条件づけの獲得と保持に小脳核がどのように関与するかを検討した。小脳核に GABA_A 受

容体のアゴニスト (ムシモル) とアンタゴニスト (ピクロトキシン) を投与して、瞬目反射条件づけの獲得に関わる小脳核の役割を検討した。

3. 研究の方法

(1) 恐怖条件づけ

被験体に C57Black6/J マウスを用い、海馬に慢性的にガイドカニューレを投与する手術を行う。恐怖条件づけの装置にマウスを入れ、1 分後に強い電気ショックを与え、その後マウスを取り出す。24 時間後、海馬に MEK 阻害剤を投与し、20 分間電気ショックを与えずに条件づけ時と同じ装置にマウスを入れる (消去訓練)。その翌日から 3-5 日間、薬物を投与せず1日5分間条件づけ時と同じ装置にマウスを入れて、消去の記憶テストを行う。マウスのすくみ反応を恐怖記憶の指標として解析した。

ERK 1 欠損マウス用いて、恐怖条件づけを行い、24 時間後、48 時間後、1 週間後に消去テストを行った。

(2) 瞬目反射条件づけ

被験体に C57Black6/J マウスを用い、小脳核にガイドカニューレを装着する手術を行った。小脳核にムシモールもしくはピクロトキシンを投与し、15 分後に瞬目反射遅延条件づけを1日50試行、7日間行った。さらに、遅延条件づけを獲得したマウスに、ムシモールもしくはピクロトキシンを投与し、瞬目反射遅延条件づけを実施し、課題の保持に小脳核 GABA 受容体の果たす役割を調べた。また、片側の小脳核にのみ、ムシモールもしくはピクロトキシンを投与する実験も行った。

4. 研究成果

恐怖条件づけを行う前にMEK阻害剤を投与する獲得条件と、条件づけ後24時間後にMEK阻害剤を投与する消去条件の2種類の実験を行った。結果、獲得条件でも、消去条件でも海馬に投与したMEK阻害剤の効果は認められなかった。

次に、ERK1を欠損した遺伝子組み換えマウスを用いて、恐怖条件づけを実施した。結果、24時間後の文脈(コンテキスト)記憶テストで、ERK1欠損マウスは記憶の保持に有意な障害を示した。しかし、強いショックを与えた条件では、24時間後、48時間後とも記憶の保持に障害を示さず、消去過程に群差は認められなかった。

小脳核に GABAA 受容体のアゴニスト・ムシモール(MSC)とアンタゴニスト・ピクロトキシン (PTX)を投与して、瞬目反射条件づけを行った。学習前の動物に MSC もしくは PTX を投与した獲得条件では、MSC 投与群および PTX 投与群はどちらも有意にこの学習に障害を示した。さらに、学習した後に薬物投与した保持条件でも、MSC 投与、PTX 投与はともにこの学習の保持を有意に障害を示した。これらの結果は、小脳核の GABAA 受容体が瞬目反射条件づけ Delay 条件に重要な役割を果たしていることを示している。

さらに、片側小脳核の役割を検討した。マウスの瞬目反応は左目から記録しており、この場合左側(同側)の小脳核がこの学習に関与していると報告されている。本件では、同側もしくは反対側の小脳核に GABA 受容体のアゴニスト(ムシモール)とアンタゴニスト(ピクロトキシン)を投与して、瞬目反射条件づけに与える効果を検討した。

結果、同側、反対側の小脳核はともに瞬目反射条件づけの保持に重要であることが示唆された。

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 2 件)

- ① T. Sakamoto & S. Endo: GABAA receptors in the deep cerebellar nuclei play important roles in mouse eyeblink conditioning. *Brain Research*, 1230, 125-137, 2008
- ② N. Kojima, G. Borlikova, T. Sakamoto, K. Yamada, T. Ikeda, S. Itohara, H. Niki, & S. Endo: Inducible cAMP early repressor acts as a negative regulator for kindling epileptogenesis and long-term fear memory. *Journal of Neuroscience*, 28, 6459-6472, 2008

[学会発表] (計 6 件)

- ① T. Sakamoto, T. Arasaki, & S. Endo: Neural circuits for mouse eyeblink conditioning: the role of red nucleus and deep cerebellar nuclei under the salient conditioned stimulus. 6th FENS Forum of European Neuroscience, 2008
- ② T. Sakamoto, T. Arasaki, & S. Endo: Neural circuits for mouse eyeblink conditioning: the role of red nucleus and deep cerebellar nuclei under the salient conditioned stimulus. 31th Annual meeting of Japan

Neuroscience Society, 2008

- ③ T. Sakamoto, T. Arasaki, & S. Endo: GABA receptors in the deep cerebellar nuclei play an important role in acquisition and retention of mouse eyeblink conditioning.

37th Annual meeting of Society for Neuroscience, 2007

- ④ T. Sakamoto, T. Arasaki, & S. Endo: GABA receptors play roles in acquisition and retention of mouse eyeblink conditioning in the cerebellar nuclei. 30th Annual meeting of Japan Neuroscience Society, 2007

- ⑤ T. Sakamoto & S. Endo: GABA receptors in the deep cerebellar nuclei are essential for mouse eyeblink conditioning. Cold Spring Harbor Laboratory meeting: Synapses, from molecules to circuits & Behavior, 2007

- ⑥ T. Sakamoto, M. Fujiwara, T. Arasaki, & S. Endo: GABA receptors in the deep cerebellar nuclei are essential for mouse eyeblink conditioning.

29th Annual meeting of Japan Neuroscience Society, 2006

[図書] (計 2 件)

- ① 坂本敏郎: (第 9 章) 空間の認知、渡辺茂・岡市広成 (編) 比較海馬学、ナカニシヤ出版、Pp. 119-133、2008

- ② 坂本敏郎: (第 2 章) ニューロン内の情報、神経系の情報、(第 4 章) その他の学習、

山内弘継・橋本幸 (監修) 岡市広成・鈴木直人 (編) 心理学概論、ナカニシヤ出版、Pp. 20-23、Pp. 23-29、Pp. 100-104、2006

[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：

○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]
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

坂本敏郎 (SAKAMOTO TOSHIRO)

独立行政法人沖縄科学技術研究基盤整備機構・記憶と学習の分子神経生物学ユニット・研究員

研究者番号：40321765

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

