

令和 5 年 4 月 19 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06849

研究課題名(和文) 皮質 海馬トップダウン制御による遠隔記憶形成メカニズム

研究課題名(英文) The mechanism of remote memory formation by cortico-hippocampal top-down regulation

研究代表者

金 亮 (KIM, RYANG)

東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・助教

研究者番号：60793916

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：海馬は恐怖記憶形成に必須である。しかしながら、記憶形成からの時間と共にその想起に対する重要性は低下し、その一方で、皮質領野における重要性が増す。この現象はシステムレベルの固定化と呼ばれ、システムレベルの固定化によって形成された遠隔記憶は永続的に保持され得る。本研究では、マウスの恐怖記憶の行動モデルである、恐怖条件付け文脈学習記憶課題のシステムレベルの固定化が皮質 海馬トップダウンによって制御されると仮定し、この制御に対する回路・分子メカニズム同定を試みた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

動物において恐怖記憶は、危険な状況を回避するなど必須な記憶であるが、ヒトにおいては心的外傷後ストレス障害(PTSD)発症の要因ともなり得る。PTSDは恐怖イベントを経験してから時間経過後での治療が重要であるため、時間経過した遠隔記憶の形成に寄与するシステムレベルの固定化のメカニズムを明らかにすることは、行動神経学のみならず医学的にも重要である。本研究での成果は、システムレベルの固定化の人為的な操作や分子機構解明を可能とする基盤を整え、恐怖記憶を長期的に保持・制御するメカニズムの全容解明に向け、わずかではあるが、しかし確実な前進をもたらすものである。

研究成果の概要(英文)：The hippocampus plays a critical role in memory formation, but its importance for recall gradually decreases with time. On the other hand, the importance for recall in cortical areas increases. This phenomena is called systems consolidation of memory. In this study, we hypothesized that systems consolidation is regulated by a cortical-to-hippocampal top-down process and attempted to identify circuit and molecular mechanisms for this regulation using the fear memory task in mice, contextual fear conditioning task.

研究分野：行動神経学

キーワード：海馬 エングラム細胞 恐怖記憶

1. 研究開始当初の背景

げっ歯類における、恐怖条件付け文脈学習記憶(CFC)は、恐怖記憶のみならず、不安行動など、他の行動にも大きく影響を与え、ヒトにおける心的外傷後ストレス障害(PTSD)の実験モデルと捉えられている。しかし、臨床において、PTSD治療はPTSDの要因となる恐怖イベント体験から時間が経過してから行われることから、恐怖記憶が形成される際を対象とするよりも、時間が経過した恐怖記憶(遠隔記憶)が脳内でどのように制御されているかを明らかにすることが重要であると考えられる。CFCによる恐怖記憶形成には脳領野の一つである海馬が必須である。しかし記憶形成からの時間経過と共に、想起に対する海馬依存性は減少し、数週間以上の遠隔記憶の想起には大脳皮質の神経活動を必要とすることが明らかになっている(「システムレベルの固定化」と呼ばれる)。一方で、近年発達した光遺伝学を応用した研究から、「記憶痕跡」と呼ばれる記憶を保持・貯蔵する実態の解明が急速に進んでおり、記憶形成時に活性化された神経細胞群(エンGRAM細胞群)が、記憶痕跡としての役割を果たすことが強く示唆されてきた。我々の研究(Kim et al., 準備中)を含むこれまでの研究から、遠隔記憶形成に際し、海馬エンGRAM細胞群が皮質領野でのエンGRAM細胞群を制御し、結果として皮質領野での遠隔記憶想起に対する重要性を増加させるという海馬-皮質ボトムアップ制御の存在が強く示唆されてきていた。その一方、(1) システムレベルの固定化が進むに伴った海馬機能の想起に対する役割の減少が、どのようなメカニズムによって制御されるか、(2) 時間経過による想起に対する海馬依存性の減弱することが、そもそも遠隔記憶形成に必須であるか、という点については不明であった。

2. 研究の目的

本研究に先立ち、皮質領域での遺伝学的操作により、皮質エンGRAM細胞群を人為的に制御することにより、人為的にシステムレベルの固定化が促進された、即ち海馬における記憶想起に対する役割が急速に減少させ、皮質における記憶想起に対する役割が急速に増加させることに成功した。以上より、本研究では、皮質-海馬トップダウン制御による海馬機能制御がシステムレベルの固定化を制御するとの仮説を立てこれを検証する。

3. 研究の方法

(1) 皮質→海馬トップダウン制御を担う回路同定

CFC 遠隔記憶の制御の中核である皮質領野(帯状回)から、海馬領野への投射網を明らかにするため、トレーシング実験を行う。具体的には、逆行性トレーシング試薬 CTB、逆行トレーシングに特化した、rAAV2retro、あるいは TVA を発現可能な AAV および pseudo 型狂犬病ウイルスを海馬に感染させ、帯状回における逆行性発現について検証する。

(2) 人為的システムレベルの固定化促進による海馬エンGRAM細胞の機能変化

帯状回での遺伝学的操作によってシステムレベルの固定化が促進した際、海馬エンGRAM細胞群が変化するかについて検証する。具体的には、人工エンハンサーを有するプロモータ(E-SARE)を用いて海馬エンGRAM細胞群を標識・操作可能なシステムを構築し、帯状回において遺

伝学的操作を行った際の海馬エンGRAM細胞群の光遺伝学的な操作による人工的な記憶想起の有無や、スパイン形態について評価する。

(3) 単一細胞 RNAseq を用いた海馬エンGRAM細胞群を制御する分子メカニズム

標識された海馬エンGRAM細胞を蛍光活性化セルソーティング法 (FACS) を用いて特異的に抽出し、単一細胞 RNAseq を行うことで海馬機能減弱に際し重要な分子群を同定する。

4. 研究成果

本研究では逆行性トレーシングに用いた CTB, rAAV2retro あるいは狂犬病ウイルスすべてにおいて、帯状回における海馬からの逆行性標識は観察されなかった。また、同法を用いて海馬から帯状回への直接回路の存在を確認することはできなかった。以上は、両領野間での直接回路の存在を示唆した過去の研究結果とは異なっている。しかしながら、両領野間においては別の領野を介した回路の存在を確認できたことから、皮質→海馬のトップダウン制御は、これらの領域を経ることで成し得ているものであると考察された。

E-SARE の下流にドキシサイクリン依存性プロモーター (teton3G) を連結させたシステムを有する AAV により、海馬歯状回領域において恐怖記憶形成依存的な標識が可能であることが示されたことから、本システムを用いて、光遺伝学的な操作によって人為的な恐怖記憶想起制御を行った。その結果、帯状回における遺伝学的操作を行っても、海馬におけるエンGRAM細胞内に記憶が保持され続けていることが示された。また、本システムを用いることで、恐怖記憶依存的に標識された海馬エンGRAM細胞群樹状突起におけるスパイン形態について、画像解析ソフト IMARIS を用いて観察・解析可能であることを確認し、その形態変化について解析を進めた。さらに、本システムを用いて、スパイン密度変化を遺伝学的に介入操作可能な AAV の評価を行い、解析を進めた。以上の結果から、E-SARE を用いた本システムにより海馬エンGRAM細胞群を標識・評価可能であることが示唆された。これら細胞群から生きた細胞を効率良く分離し、単一細胞 RNAseq 可能とするための最適化プロトコルを構築し、解析を進めた。

以上本研究の結果に基づき、システムレベルの固定化における皮質→海馬トップダウン制御のメカニズム解明に向けた回路・分子・動態解析の基盤を整えることに成功したと考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kim Ryang, Yamamoto Naoki, Kitamura Takashi	4. 巻 23
2. 論文標題 Extra neural ensemble disrupts memory recall	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Neuroscience	6. 最初と最後の頁 905 ~ 907
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41593-020-0673-z	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Ryang Kim, Haruhiko Bito, Takashi Kitamura
2. 発表標題 The development of novel task for learning the knowledge without firsthand experience
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ryang Kim, Haruhiko Bito, Takashi Kitamura
2. 発表標題 Social transmission of new knowledge without firsthand experience in mice
3. 学会等名 Neuroscience 2022 (Society for Neuroscience) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hayato Kondo, Ryang Kim, Ranmaru Shimoda, Rie Yamashita, Shigetaka Kobari, Yusuke Tomiyama, Jungmin Kim, Takumitsu Shakuno, Leonie S. Brebner, Haobo Song, Tatsushi Yokoyama, Kasumi Inokuchi, Yayoi Kondo, Michiko Okamura, Masayuki Sakamoto, Hiroyuki Okuno, Keisuke Ota, Hajime Fujii, & Haruhiko Bito
2. 発表標題 Neuronal reactivation in the prelimbic cortex during fear memory extinction
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hayato Kondo, Ryang Kim, Ranmaru Shimoda, Rie Yamashita, Jungmin Kim, Takumitsu Shakuno, Leonie S. Brebner, Haobo Song, Kasumi Inokuchi, Yayoi Kondo, Michiko Okamura, Hiroyuki Okuno, Keisuke Ota, Hajime Fujii, & Haruhiko Bito
2. 発表標題 Neuronal activity dynamics in the prelimbic cortex underlying fear memory processing
3. 学会等名 Neuroscience 2022 (Society for Neuroscience) (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	下田 蘭丸 (Shimoda Ranmaru)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------