

令和 4 年 5 月 18 日現在

機関番号：14501

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22686

研究課題名（和文）海馬-前帯状皮質間の空間記憶固定化におけるメモリープレイの役割解明

研究課題名（英文）Cellular dynamics of the hippocampus and anterior cingulate cortex in consolidation of spatial memory

研究代表者

棒田 亜耶花（BOTA, Ayaka）

神戸大学・医学研究科・特命助教

研究者番号：10884645

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：記憶は海馬で形成され、休眠中の再発火により皮質へ移行し長期記憶になると考えられている（記憶の固定化）。申請者は海馬場所細胞より広い場所受容野を持つ新たな細胞群を前帯状皮質で発見し、空間文脈細胞と名付けた。空間文脈細胞は学習中、休眠中の海馬-皮質間の再発火により前帯状皮質へ形成され、空間、文脈の長期記憶に伴い増加することが明らかになり、海馬から前帯状皮質へ記憶の固定化を経て形成される細胞であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

記憶は海馬で形成され、休眠中の再発火により皮質へ移行し長期記憶になると考えられていたが、それを細胞レベルで直接的に示す研究はなかった。申請者の発見した空間文脈細胞は学習中、休眠中の海馬-皮質間の再発火により前帯状皮質へ形成され、空間、文脈の長期記憶を表象することが明らかになり、記憶の固定化を細胞レベルで示すものである。これらの発見により長期記憶が形成される詳細なメカニズムがさらに明らかになると期待される。

研究成果の概要（英文）：The memory initially formed in the hippocampus (HPC) is subsequently transferred to cortex through memory consolidation process. However how memory is consolidated in cortex (Anterior cingulate cortex; ACC) is not known. We found a small proportion of neurons (named 'spatial context cell') in ACC that responds to an large field. The fraction of spatial context cell increased after 9 days training. However inhibition of hippocampus during or after learning impaired increase of spatial-context cell. In addition, this increase of spatial-context cell is depend on long-term memory. This suggests the appearance of spatial context cells depends on hippocampal projections during and after learning to form long-term memory in cortex. Thus, spatial context cell is considered as spatial information formed as a result of memory consolidation process.

研究分野：神経科学

キーワード：in vivoイメージング 海馬 前帯状皮質 記憶

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

記憶は初め海馬で形成された後に大脳皮質などの領域に移行していくと考えられており、この記憶の移行は記憶の固定化と呼ばれる(Milner et al., 1998)。特に前帯状皮質は長期記憶の想起に伴い再活性化が起こる領域としても知られていたが、これまでの研究手法は同一固体から長期的に前帯状皮質の神経活動を記録することが難しく、皮質へ固定化された記憶がどのような細胞により保存されているのか、またその細胞活性はどのような海馬-皮質間の伝達を経て形成されているのかが明らかでなかった。海馬には動物が特定の場所を訪れた際に発火する「場所細胞」があり、場所記憶を担っていると考えられている(O'Keefe and Dostrovsky, 1971)。そこで申請者は場所情報が前帯状皮質でどのように表現されているかを調べるため、前帯状皮質の長期カルシウムイメージング法を確立した(図 1a)。その結果、海馬場所細胞より広い場所受容野を持つ新たな細胞群を前帯状皮質で発見し、空間文脈細胞と名付けた(図 1b)。空間文脈細胞は海馬からの空間情報を受け取り、空間情報を記憶している細胞と考えられた。空間文脈細胞は空間選択性を示し、特定の空間でのみの特異的な反応を示す。さらに 9 日間同一空間に暴露することにより徐々に増えていくが、学習中に海馬の神経活動を阻害することにより、前帯状皮質で空間文脈細胞の増加や安定化が見られなくなったため、海馬で形成された空間の一部に対する記憶が前帯状皮質へ移行し抽象的な空間全体の記憶として形成されたものと考えられる。

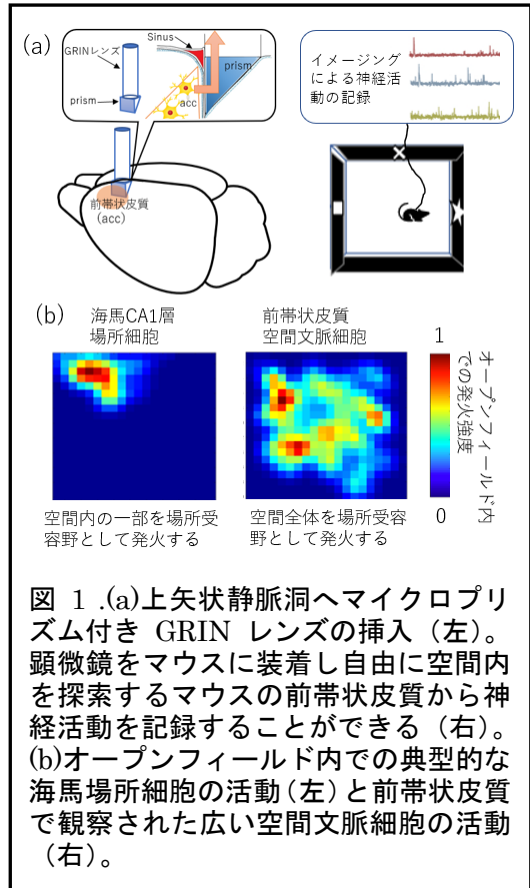


図 1. (a)上矢状静脈洞へマイクロプリズム付き GRIN レンズの挿入 (左)。顕微鏡をマウスに装着し自由に空間内を探索するマウスの前帯状皮質から神経活動を記録することができる (右)。(b)オープンフィールド内での典型的な海馬場所細胞の活動 (左)と前帯状皮質で観察された広い空間文脈細胞の活動 (右)。

2. 研究の目的

申請者は、空間文脈細胞がどのような海馬-前帯状皮質の伝達を経て形成されるのかを明らかにしたいと考えている。特に、睡眠中に海馬で発生するメモリーリプレイに着目する。海馬場所細胞は、動物の静止状態や睡眠中に再び発火することが知られており、この現象はメモリーリプレイと呼ばれている。繰り返し発火した神経細胞同士はシナプス可塑的な変化を起こし伝達効率が上昇する (長期増強、LTP) ため、海馬メモリーリプレイは海馬-皮質間の記憶移行に重要な現象と考えられている。このモデルを裏付ける報告として、睡眠中に海馬メモリーリプレイが見られる時に観察される脳波 'SharpWave/ripple 波' を人工的に増加させると覚醒後の空間記憶成績が向上する (Maingret et al., 2016)。以上から空間文脈細胞も睡眠中の再発火により形成され、長期記憶が形成されると考えられるが、その形成過程は明らかでない。また、これまで空間暴露のみのタスクにより空間文脈細胞が観察されていたため、長期記憶との関連は明らかでない。このため空間文脈細胞が長期記憶を表象する細胞であることも確かめる必要がある。

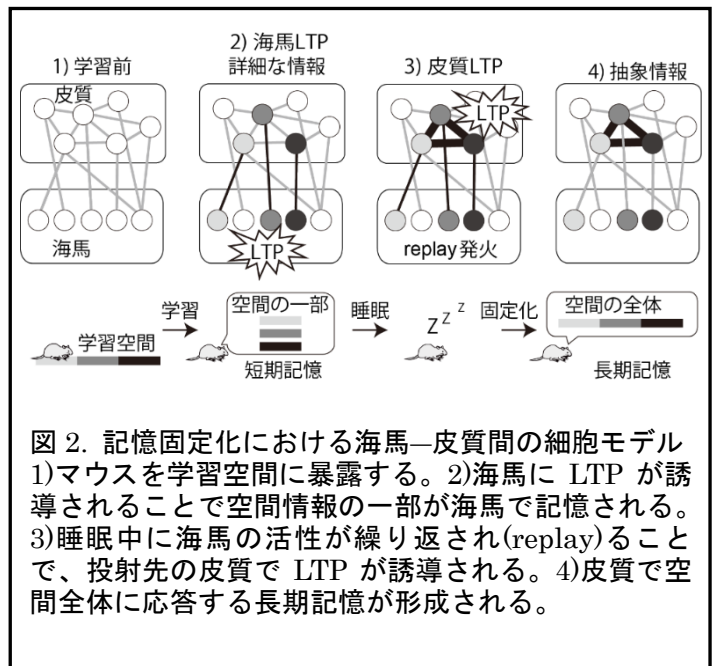


図 2. 記憶固定化における海馬-皮質間の細胞モデル 1)マウスを学習空間に暴露する。2)海馬に LTP が誘導されることで空間情報の一部が海馬で記憶される。3)睡眠中に海馬の活性が繰り返され(replay)することで、投射先の皮質で LTP が誘導される。4)皮質で空間全体に応答する長期記憶が形成される。

3. 研究の方法

前帯状皮質は正中線上で左右の大脳半球が接した深部に位置するため、従来イメージングで使用してきた円筒型の GRIN レンズや光学窓を用いることができなかった。この問題を解決するためにマイクロプリズムによるイメージング法を考案した。まず、蛍光カルシウムセンサータンパク質である G-CaMP7 を発現するトランスジェニックマウスを手術台上に固定し開頭し、前帯

状皮質の上部の頭蓋骨、硬膜を取り除く。その後、上矢状静脈洞を避けつつ、マイクロマンピュレーターに固定したマイクロプリズム付き GRIN レンズを挿入する(図 1a)。術後、蛍光顕微鏡を焦点距離に装着することで前帯状皮質の神経細胞から蛍光画像を取得することができる。この技術により前帯状皮質の神経活動を長期的に記録、解析する。さらに designer receptor exclusively activated by designer drug (DREADD)を海馬に導入し海馬神経活動を抑制しつつ前帯状皮質の神経活動を観察することにより、空間文脈細胞の形成が阻害されるか確認する。

4. 研究成果

空間文脈細胞は 9 日間の曝露により徐々に増加していくが、学習中の海馬の神経活動を抑制することにより形成が阻害される。先行研究は休眠中の海馬での再発火が記憶の移行に重要であることを示しているため、学習中のみでなく休眠中の海馬からの投射も重要であることを確かめるため学習後に海馬神経活動を抑制し、空間文脈細胞が形成されるかを確認する。空間文脈細胞の形成が海馬からの投射によるものであれば、休眠中の海馬の活動を抑制することによりその形成も阻害されると考えられる。これを検証するため、designer receptor exclusively activated by designer drug (DREADD)による海馬神経活動の抑制を行いつつ前帯状皮質の神経活動を記録した。AAV Vector を用いて海馬に DREADD の 1 つである hM4D(Gi)を発現し、リガンドであるクロザピン-N-オキシド(CNO)を記憶学習後、ホームケージ内で投与することにより、休眠中の海馬神経活動を抑制した(図 3a)。その結果、前帯状皮質の空間文脈細胞の増加が観察されなくなった(図 3b)。この結果より空間文脈細胞は学習中、学習後の海馬から皮質への繰り返しの投射によって形成されるものであることが明らかになった。

さらに従来行ってきた空間曝露では、空間文脈細胞が記憶の形成にともない空間文脈細胞が形成されているか明らかでないため、記憶学習試験と神経活動観察を行う実験系を新たに立ち上げた。学習タスクは、受動的回避学習試験 (Inhibitory avoidance test, IA test)を用いる(図 4a)。マウスを明室に入れると、マウスは暗い場所を好む性質があるため、1 分以内に暗室に入る。暗室内でマウスは電気ショックを受ける。これにより暗室に対する記憶が形成されると、9 日目に再度明室へ入ると暗室に入るまで遅滞がみられる。この遅滞を記憶成績とする。この学習タスク中にも前帯状皮質の神経活動記録を行ったところ、IA box 内全体に広く発火する空間文脈細胞が見られた(図 4b)。これらの空間文脈細胞の形成が長期記憶の形成に特異的なものであることを示すため、電気ショックを受ける群、電気ショックを受けない群、また短期記憶との比較のために 1 時間後に試験を行う群に分け、比較を行った。その結果、空間文脈細胞は電気ショックを受け記憶を形成したグループでのみ増加が見られ、電気ショックなし (記憶形成なし) のグループと 1 時間後に試験を行う短期記憶グループには増加は見られなかった(図 4c)。これらの結果から、空間文脈細胞は空間に対する長期的な記憶が形成されたときに形成される神経活動であり、空間と文脈に対する長期記憶を表象していると考えられる。

記憶の固定化による長期記憶の形成は先行研究により知られていたが、その詳細な海馬一皮質の情報動態は明らかではなかった。上記の結果から学習中、休眠中の海馬一皮質間の再発火により前帯状皮質へ空間文脈細胞が形成され、空間、文脈の長期記憶を表象することが明らかになった。本研究により長期記憶が形成される詳細なメカニズムがさらに明らかになると期待される。

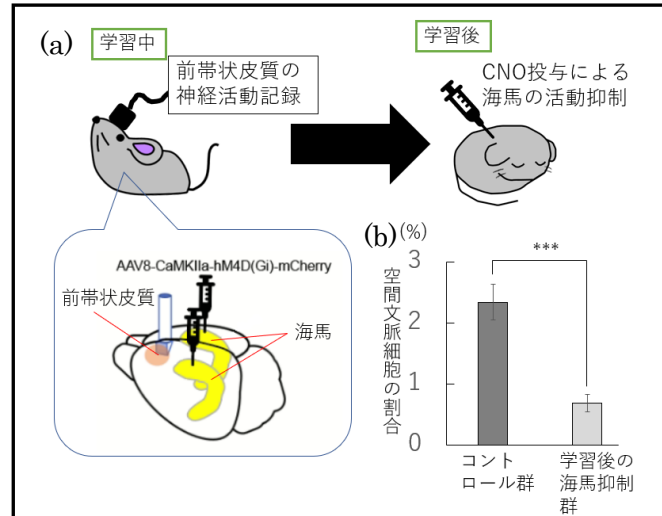


図 3. DREADD による海馬抑制と空間文脈細胞形成 (a) AAV Vector を用いて海馬に hM4D(Gi)を発現させ、空間曝露による学習後に CNO 投与で海馬の活動を抑制する。(b)9 日間の空間への曝露後、前帯状皮質における空間文脈細胞の割合。学習後に海馬の活動を抑制した群では前帯状皮質での空間文脈細胞の形成が抑制される。

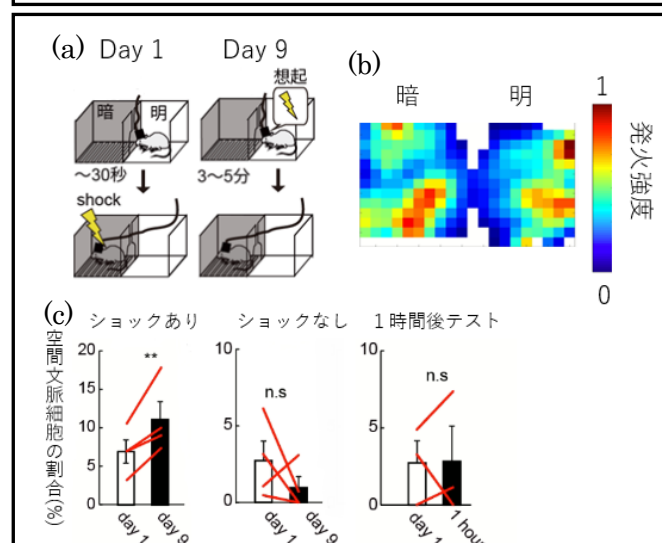


図 4. 受動的回避学習試験による空間文脈細胞の形成 (a)マウスは IA box の明室に入れられ、暗室に侵入した後に暗室内で電気ショックを受ける。9 日後に再度 IA box の明室に入ると暗室に入るまでに遅延が見られる。(b)IA box 内で観察された空間文脈細胞の例。(c) 電気ショックを受け記憶を形成したグループ、電気ショックなし (記憶形成なし) のグループと 1 時間後に試験を行う短期記憶グループで空間文脈細胞の増加を比較したところ、ショックあり群でのみ有意な増加が見られた。

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 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ayaka Bota, Akihiro Goto, Suzune Tsukamoto, Alexander Schmidt, Fred Wolf, Alessandro Luchetti, Junichi Nakai, Hajime Hirase, and Yasunori Hayashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Shared and unique properties of place cells in anterior cingulate cortex and hippocampus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BIORXIV	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/2019.12.11.123456	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------