

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：13201

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2013～2017

課題番号：25115002

研究課題名(和文)げっ歯類の記憶再固定化システムをモデルとした記憶ダイナミズムの共通原理の理解

研究課題名(英文)Common principle underlying memory dynamism based on rodents reconsolidation

研究代表者

井ノ口 馨(Inokuchi, Kaoru)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・教授

研究者番号：20318827

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 65,900,000円

研究成果の概要(和文):たんぱく質分解系のオートファジーが、想起に伴う記憶脆弱化を誘導することを明らかにした。また、完全な逆行性健忘は記憶痕跡(記憶エンGRAM)そのものの消失によるものであることを示した。海馬依存的な学習課題を用いて、神経新生が飽和状態の海馬の神経回路網を回復させることにより、海馬の記憶容量を確保する働きを持つことを明らかにした。記憶同士が関連づけられ連合記憶を形成する際に観察される重複した記憶エンGRAM細胞集団は、記憶の関連づけ(連合)のみに関与し、それぞれの記憶を思い出すためには必要ではないことを明らかにした。

研究成果の概要(英文):Autophagy, a protein degradation system, induces a memory destabilization upon retrieval. Complete retrograde amnesia is accompanied by erasure of memory trace. Adult neurogenesis plays an important role in the maintenance of hippocampal memory capacity through recovery of saturated neuronal circuits. Overlapping memory trace is indispensable for linking, but not recall, of individual memories.

研究分野：神経科学

キーワード：記憶 再固定化 エンGRAM 逆行性健忘 オートファジー 海馬 神経新生 長期増強

1. 研究開始当初の背景

記憶は脳内に固定化され蓄えられたあと、脆弱化・再固定化・連合・減弱・転送などダイナミックなプロセスを経て質的に変化する。記憶は想起に伴い脆弱化するが、その後、再固定化のプロセスを経て再び安定した記憶になる。マウスやラットなどのげっ歯類における記憶の動的側面に関する研究として、研究代表者らは、海馬から大脳皮質への記憶の転送メカニズム(*Cell*, 2009)や、記憶の正確な連合の仕組み(*Science*, 2009)そしてオートファジーによるシナプス伝達の減弱を明らかにしてきた(*J. Neurosci.*, 2012)。

2. 研究の目的

本研究では、これらの成果を更に発展させ記憶ダイナミズムの本質に迫るため、記憶の動的変化の根本に横たわる記憶エンGRAM (記憶痕跡) のダイナミズムを解析する。個々の記憶は学習時に活動したニューロンのセット(セルアセンブリ)に割り付けられて符号化されて保存されることが明らかにされてきており、セルアセンブリが記憶エンGRAMであると理解される。

本研究では、想起に伴う脆弱化・再固定化を記憶ダイナミズムの代表例として取り上げ、再固定化の阻害による記憶の破壊が、記憶エンGRAMの消失によるものなのか、あるいはエンGRAMは残存しているが想起できなくなったためなのかを、遺伝子操作イメージングと光遺伝学を組み合わせたセルアセンブリを自在に操る技術を用いて明らかにする。同時に、脆弱化・再固定化のメカニズムを *in vivo* LTP 再固定化系とオートファジー制御系を用いて解析し、記憶エンGRAMの動態の背景にある細胞・分子レベルのメカニズムをあぶり出す。

3. 研究の方法

マウスおよびラットを用い、記憶課題は文脈性恐怖条件付けと音恐怖条件付けを用い

た。記憶の再固定化におけるオートファジーの役割は、海馬長期増強、恐怖条件付けを用いて解析した。記憶エンGRAM細胞の標識は、Tet-Tag システムと最初期遺伝子 *c-fos* プロモータの組み合わせで行った。神経新生レベルは、X線照射や回し車による運動で制御した。

4. 研究成果

- オートファジーは、記憶エンGRAM細胞のシナプス膜上に存在する AMPA 受容体を分解することで、想起に伴う記憶脆弱化を誘導することを明らかにした(*J Neurosci*, 2018, 発表論文3)。記憶の想起時に、オートファジー活性の促進ペプチド tBC をタンパク質合成阻害剤とともに脳内に注入すると、完全な逆行性健忘を引き起こしたが、この健忘は記憶痕跡(記憶エンGRAM)そのものの消失によるものであることを、音恐怖条件付け課題と光遺伝学・光電気生理学を駆使して明らかにした(*Science*, *in press*, 発表論文1)。
- 海馬依存的な学習課題を用いて、繰り返し LTP 誘導による海馬神経回路の飽和状態は、神経新生により回復することを明らかにした。神経新生が飽和状態の海馬の神経回路網を回復させることにより、海馬の記憶容量を確保する働きを持つことを示している(*J Neurosci*, *in press*, 発表論文2)。
- 記憶同士が関連づけられ連合記憶を形成する際に、それぞれの記憶を司る記憶エンGRAM集団が重複するが、その役割は不明だった。本研究で、重複した記憶エンGRAM細胞集団は記憶の関連づけ(連合)のみに関与し、それぞれの記憶を思い出すためには必要ではないことを明らかにした(*Science*, 2017, 発表論文5)。この成果により、個々の記憶に影響を与えることなく、記憶の不要な

結びつきのみを切り離すことも可能になり、精神疾患の新たな治療法の創出にもつながると期待される。

<引用文献>

Kitamura T., Saitoh Y., Takashima N., Murayama A., Niibori Y., Ageta H., Sekiguchi M., Sugiyama H., and Inokuchi K. (2009) Adult neurogenesis modulates the hippocampus-dependent period of associative fear memory. *Cell* 139, 814-827.

Okada, D., Ozawa, F. & Inokuchi, K. Input-specific spine entry of soma-derived Ves1-1S protein conforms to synaptic tagging. *Science*, 324, 904-909 (2009).

Shehata M., Matsumura H., Okubo-Suzuki R., Ohkawa N. and Inokuchi K. (2012)

Neuronal-stimulation induces autophagy in hippocampal neurons that is involved in AMPA receptor degradation after chemical LTD. *Journal of Neuroscience*, 32, 10413-10422.

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 20件)

1. Abdou K., Shehata M, Choko K, Nishizono H, Matsuo M, Muramatsu S, *Inokuchi K. Synapse-specific representation of the identity of overlapping memory engrams. *Science*, 査読有, in press. doi: 10.1126/science.aat3810
2. Alam J, Kitamura T, Saitoh Y, Ohkawa N, Kondo T, *Inokuchi K. Adult Neurogenesis Conserves Hippocampal Learning Capacity. bioRxiv 200253. *J Neurosci*. 査読有, in press.
3. Shehata M, Abdou K, Choko K, Matsuo M, Nishizono H, *Inokuchi K. Autophagy enhances memory erasure through synaptic destabilization. *J Neurosci*. 2018 Apr 11; 38(15):3809-3822. 査読有. doi:https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1.3505-17
4. Nomoto M, *Inokuchi K. Behavioral, cellular, and synaptic tagging frameworks. *Neurobiol Learn Mem*. 2018 Mar 10. pii: S1074-7427(18)30065-0. 査読有. doi:doi.org/10.1016/j.nlm.2018.03.010
5. Yokose J, Okubo-Suzuki R, Nomoto M, Ohkawa N, Nishizono H, Suzuki A, Matsuo M, Tsujimura S, Takahashi Y, Nagase M, Watabe AM, Sasahara M, Kato F, *Inokuchi K. Overlapping memory trace indispensable for linking, but not recalling, individual memories. *Science*. 2017 Jan 27; 355(6323):398-403. 査読有. doi:10.1126/science.aal2690
6. Nomoto M, Ohkawa N, Nishizono H, Yokose J, Suzuki A, Matsuo M, Tsujimura S, Takahashi Y, Nagase M, Watabe AM, Kato F, *Inokuchi K. Cellular tagging as a neural network mechanism for behavioral tagging. *Nature Commun*. 2016 Aug 1;7: 12319. 査読有. doi:10.1038/ncomms12319
7. Okubo-Suzuki R, Saitoh Y, Shehata M, Zhao Q, Enomoto H, *Inokuchi K. Frequency-specific stimulations induce reconsolidation of long-term potentiation in freely moving rats. *Mol Brain*. 2016 Mar 25;9:36. 査読有. doi:10.1186/s13041-016-0216-4
8. Omura Y, Carvalho M, *Inokuchi K, *Fukai T. A lognormal recurrent network model for burst generation during hippocampal sharp waves. *J Neurosci*. 2015 Oct 28;35(43): 14585-14601. 査読有. doi:10.1523/JNEUROSCI.4944-14.2015
9. Nihonmatsu I, Ohkawa N, Saitoh Y, *Inokuchi K. Targeting of ribosomal protein S6 to dendritic spines by in vivo high frequency stimulation to induce long-term potentiation in the dentate gyrus. *Biol Open*. 2015 Oct 2;4(11):1387-94. 査読有. doi: 10.1242/bio.013243
10. Ohkawa N, Saitoh Y, Suzuki A, Tsujimura S, Murayama E, Kosugi S, Nishizono H, Matsuo M, Takahashi Y, Nagase M, Sugimura YK, Watabe AM, Kato F, *Inokuchi K. Artificial Association of Pre-stored Information to Generate a Qualitatively New Memory. *Cell Rep*. 2015 Apr 14;11(2): 261-9. 査読有. DOI: 10.1016/j.celrep.2015.03.017
11. Tsubota T, Okubo-Suzuki R, Ohashi Y, Tamura K, Ogata K, Yaguchi M, Matsuyama M, Inokuchi K, *Miyashita Y. Cofilin1 Controls Transcolumnar Plasticity in Dendritic Spines in Adult Barrel Cortex. *PLoS Biol*. 2015 Feb

- 27;13(2):e1002070. 査読有.
DOI: 10.1371/journal.pbio.1002070
12. Shehata M, *Inokuchi K. Does autophagy work in synaptic plasticity and memory? *Rev Neurosci.* 2014;25(4):543-57. 査読有.
doi:10.1016/j.celrep.2015.03.017
 13. Kitamura T, *Inokuchi K. Role of the Adult Neurogenesis in Hippocampal-Cortical Memory Consolidation. *Mol Brain.* 2014 Feb 19;7:13. 査読有.
doi:10.1186/1756-6606-7-13
 14. 横瀬 淳, 井ノ口馨: 個々の記憶どうしをつなぐ神経細胞集団のメカニズム. **実験医学** 35, 1480-1483, (2017)
 15. 井ノ口馨: 記憶をつくり変える. **日経サイエンス** 11月号. 28-37, (2017)
 16. 横瀬 淳, 井ノ口馨: 個々の記憶どうしをつなぐ神経細胞集団のメカニズム. **実験医学** 35, 1480-1483, (2017)
 17. 佐野良威, 大川宜昭, 鈴木章円, 井ノ口馨: 記憶痕跡とメモリアロケーション. **生体の科学・特集 記憶ふたたび**, 67, 22-26, (2016)
 18. 井ノ口馨: 虚記憶を創り出す: 細胞集集体理論を基として. **神経心理学** 32, 3-9, (2016)
 19. 鈴木章円, 井ノ口馨: Q & A - 神経科学の素朴な疑問 Q ど忘れはどうして起こるのですか?. **月刊 臨床神経科学 ブレインマシンインターフェース** 34, 245, (2016)
 20. 大川宜昭, 井ノ口馨: オプトジェネティクスによる記憶の操作. **実験医学** 33, 3065-3069, (2015) 総説

〔学会発表〕(計77件)

1. Inokuchi K.: Mechanisms underlying the association and the identity of memories. The 16th Annual MCCS meeting, 2017. 11. 10, Washington DC, USA. (Invited lecture)
2. Inokuchi K.: Neuronal ensemble distinguishes overlapping memories by engram-specific synaptic plasticity. The 12th International Conference of Neurons and Brain Diseases, Association for the study of neurons and diseases, 2017. 10. 7-9, Taormina, Italy.
3. Inokuchi K.: Overlapping memory trace indispensable for linking, but not recalling,

- individual memories. The 20th Annual Meeting of the Korean Society for Brain and Neural Science "Challenge the Brain, Change the Future", 2017. 8. 30-31, Seoul.
4. Inokuchi K.: Cell ensemble mechanisms underlying memory association. Pain and Cortex Summer Meeting, 2017. 8. 14-15, Toronto, Canada.
 5. Inokuchi K.: Overlapping memory trace is indispensable for linking, but not recalling, individual memories. Molecular and Cellular Cognition Society - Asia 2017 Meeting, 2017. 8. 1-3, Singapore.
 6. Inokuchi K.: Manipulating memories based on engram technology. 2017 International Brain Science Summit, 2017. 6. 25-27, Nanning, Hangzhou, China. (Invited lecture)
 7. Inokuchi K.: Overlapping memory trace is indispensable for linking, but not recalling, individual memories. The 2017 Cold Spring Harbor Asia Symposium, Francis Crick Symposium - Transforming Neurosciences: Questions & Experiments, 2017. 5. 8-12, Suzhou, China. (Invited lecture)

他 70 件

〔図書〕(計3件)

1. 井ノ口馨: 記憶をあやつる, **角川選書**, 角川書店, (2015)
2. Okada, D. and Inokuchi, K.: Activity-Dependent Protein Transport as a Synaptic Tag, in **Synaptic Tagging and Capture** (Sajikumar, S. ed.), Chapter 6, p79-98, Springer, New York (2015)
3. 井ノ口馨: 記憶をコントロールする, **岩波科学ライブラリー**, 岩波書店, (2013)

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

取得状況 (計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.u-toyama.ac.jp/bmb/index-j.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井ノ口 馨 (INOKUCHI, Kaoru)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・
教授

研究者番号：20318827

(3) 連携研究者

大川 宜昭 (OHKAWA, Noriaki)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・
講師

研究者番号：80416651

鈴木 章円 (SUZUKI, Akinobu)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・
助教

研究者番号：40424684

野本 真順 (NOMOTO, Masanori)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・
助教

研究者番号：20636253