

令和 2 年 7 月 2 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K18359

研究課題名(和文) 新生ニューロンが作る記憶痕跡

研究課題名(英文) Memory trace consolidated by new-born neurons

研究代表者

坂口 昌徳 (Sakaguchi, Masanori)

筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・准教授

研究者番号：60407088

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、生きたマウスの脳内で新生ニューロンの活動を調べました。その結果、特に怖い経験をしたときに活動したニューロンが、その後のレム睡眠の時に再活動することを発見しました。次に、レム睡眠中の新生ニューロンの活動にどのような機能があるかを知るために、光遺伝学という技術を使って、レム睡眠中に限定して新生ニューロンの活動を人工的に操作する実験を行いました。すると、マウスはあたかも怖い記憶を忘れたかのように振る舞うようになりました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、大人の脳内にごく僅かに残る再生能力が、睡眠中に記憶の定着に必要であることを明らかにしました。今後、大人の脳内で新生ニューロンが睡眠中にどのように恐怖記憶を定着させるかを解明することで、脳が持つ再生能力を高め、アルツハイマー病などの神経が失われる病気や、PTSDなどの記憶処理に異常を来す疾患に対する新しい治療法に開発に応用できるものと期待されます。

研究成果の概要(英文)：Neurogenesis, the process by which new neurons are formed, takes place in the hippocampus throughout the lifespan of animals, including humans. At present, little is known about the contribution of ABNs to memory formation during sleep. In this project, we have revealed that adult-born neurons (ABNs) in the hippocampus, which is a brain region associated with memory, are responsible for memory consolidation during REM sleep. Our findings may lead to a deeper understanding of how memories are formed, retrieved, and consolidated, and could facilitate the development of new treatments for memory disorders using the self-regeneration potential of human brain.

研究分野：神経科学

キーワード：新生ニューロン 記憶 睡眠 超小型脳内視鏡

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

(1) 研究開始当初の背景

ほ乳類の成体脳では、ニューロンの新生は基本的には起こらないとされてきた。しかし例外的に、海馬内に存在する歯状回では生涯に渡りニューロンの新生が起こる。海馬のニューロン新生は、通常シナプス可塑性をその基盤とするとされてきた哺乳類の記憶回路に、細胞そのものが入れ替わるという極めてユニークな可塑性を付加している(Kempermann, Nat. Rev. Neurosci, 2012, v13, p727)。近年、かなり高齢のヒト脳内の海馬でもニューロン新生が持続することが示され(Moreno-Jiménez et al., Nat. Med., 2019, v25, p554)、その医療への応用可能性が模索されている。歯状回では、神経幹細胞からニューロンが新生し、主に顆粒細胞という興奮性の細胞へと成熟する(Aimone and Gage, Neuron, 2011, v33, p1160)。その成熟の過程は、胎児の神経発生と相似性があり、幹細胞の興奮から約 4 週後に興奮性や可塑性が高まる時期を経て完全に成熟する(Koyanagi and Sakaguchi*, NRR, 2019, Akers and Sakaguchi* et al., Stem Cells, 2018, *責任)。本研究では、この新生ニューロンの成熟過程において、記憶痕跡の形成に新生ニューロンがどのような機能を果たすかを明らかにすることを目的とした。我々は過去の研究で、新生ニューロンが記憶痕跡の形成に必要であることを示唆するデータを得ていた(Arruda-Carvalho, Sakaguchi et al., J. Neurosci., 2011)。このために記憶痕跡の追跡に使われる遺伝子組換えマウス、Ca-imaging、光遺伝学の技術が統合的に利用可能であった。新生ニューロンは、記憶の学習・想起に重要であることは示されているが、記憶固定化における機能は不明な点が多い。記憶の固定化には睡眠の関与が盛んに検討されているが、新生ニューロンの睡眠中の記憶固定化における機能は明らかでない。

成体のニューロン新生を利用した再生医療への応用が期待されている。新生ニューロンが記憶回路に取り込まれ(Imayoshi et al., Nat. Neurosci., 2009, v11p1153)、類似する他の記憶と区別や(Nakashiba et al., Cell, 2012, v149p188 等)記憶の固定化に必要である(Kitamura et al., Cell, 2009, v139p814)。この様に新生ニューロンが記憶の様々な局面に関与するが、そのメカニズムは不明であった。

一方でノンレム睡眠は記憶に重要とされている。ノンレム睡眠中に、学習に用いた刺激(e.g.,匂い)に再暴露すると記憶が強まる(Rasch et al., Science, 2007, v315p1426 等)。ノンレム睡眠中に学習中に興奮したニューロンが再興奮することが、記憶が変化するメカニズムの一つとされている(Bendor&Wilson, Nat. Neurosci., 2012, v15p1439, Hauner et al., Nat. Neurosci., 2013, v16p1553 等)。しかし、レム睡眠を断眠によって阻害しても学習をはじめ明らかな表現形を示さないことから、2016年の研究開始当時においてはレム睡眠の記憶における意義は謎であった。

さらに、過去の研究から睡眠不足が海馬の新生ニューロンを減少させる一方で(Mirescu et al., PNAS, 2006, v103p19170)食餌後の睡眠が嗅球の新生ニューロンの除去を促進する(Yokoyama et al., Neuron, 2011, v71p883)。しかし睡眠中の新生ニューロンの興奮の、記憶への機能は不明であった。

以上から睡眠中に新生ニューロンが興奮することが記憶に重要ではないかと予想された。

(2) 研究の目的

学習時に興奮した新生ニューロンが睡眠時に再興奮することが、記憶痕跡形成に必要であることを示すことを目的とした。そのため当初、以下を計画した。

学習時に興奮した新生ニューロンを追跡し、睡眠中にその再興奮を抑制する技術を確立
学習時に興奮した新生ニューロンに選択的に興奮抑制性光受容体 ArchT の発現を誘導

新生ニューロンが記憶痕跡形成に必要であることを行動学的に検証
再興奮を、覚醒・睡眠期を区別して光照射により抑制し、記憶テストを試行
新生ニューロンの睡眠中における再興奮状態・投射先の興奮や記憶との因果関係の検証
神経活動履歴イメージング手法を利用

(3) 研究の方法

遺伝学を駆使し、学習時に興奮した新生ニューロンを光制御。学習後の覚醒・睡眠期を区別して、新生ニューロンの再興奮を抑制し、記憶への効果を検証。記憶痕跡およびその形成に必要な新生ニューロンの再興奮状態をイメージングにより分析。以上を元に、新生ニューロンの睡眠中の再興奮を、実時間で分析・介入し、記憶痕跡形成との因果関係を解明。

-新生ニューロンの睡眠中の再興奮を遺伝学的に追跡

Nestin promoter-CreERT2 マウスを (Lagace et al., J.Neurosci., 2007, v27p12623) CAG-LSL-Halo マウスと交配し Nestin/Halo マウスを作成。本マウスの海馬歯状回の未分化な神経前駆細胞に CreERT2 遺伝子を発現する。次にタモキシフェン投与により新生ニューロン中で Cre 酵素活性を誘導し Halo 遺伝子を得る。次に海馬依存性かつ一度の学習で記憶が成立するコンテキスト条件付け恐怖記憶課題を用いる。その学習トレーニング直後から各睡眠・覚醒期を区別して光照射し、その記憶形成への効果を検証。

-新生ニューロンの睡眠中の再興奮パターンと記憶形成への意義

学習後の各睡眠・覚醒期で Ca^{2+} -imaging により新生ニューロンの興奮パターンを解析。

さらに、各睡眠ステージを実時間でモニターしながら、Halo への光刺激による興奮介入を行い、その記憶形成との因果関係を検証。

(4) 研究成果

我々は、超小型の脳内視鏡を用いて、睡眠中のマウスの脳内で新生ニューロンが活動する様子を、世界で初めて観察することに成功した。これにより、睡眠中の新生ニューロンの活動は、起きているときの半分以下になることが明らかになった。新生ニューロンが生じる海馬は、記憶に深く関わる脳部位である。また、記憶の定着には睡眠が重要な役割を果たすことが知られていることから、起きている間に恐怖体験を学習することによって、その後の睡眠中の新生ニューロンの活動がどのように変化するかを調べた。その結果、マウスの脳内に怖いという感情を伴う記憶(恐怖記憶)が定着するプロセスのうち、とりわけレム睡眠中には、新生ニューロンの活動が全体的に大きく低下することを発見した。一方で、恐怖学習の最中に活動していた新生ニューロンは、レム睡眠中に他のニューロンが活動を低下させる一方、もう一度活動が上昇する(再活動)ことが判明した。

もしレム睡眠中の新生ニューロンの活動が恐怖記憶の定着に重要なのであれば、その活動を人工的に操作することでなんらかの変化が引き起こされる可能性がある。そこで、新生ニューロンの活動を光刺激によりピンポイントで操作する技術(光遺伝学的手法)により、新生ニューロンの活動と記憶の定着との関係を調べた。新生ニューロンは、大人の脳の中で生涯にわたり神経幹細胞から生じ続け、2ヶ月程度で完全な神経細胞に成長する。この成長過程の様々なタイミングで、新生ニューロンの活動を様々に操作したところ、発生から1ヶ月程度の新生ニューロンの活動をレム睡眠中に抑制したときに限って、マウスが恐怖記憶を忘れてしまうことが判明した。ノンレム睡眠中や、そのほかの成長段階の新生ニューロンで活動を抑制しても、このような現象は起きなかった。さらに、この時期の新生ニューロンに限って、シナプスという神経細胞同士の情報伝達に重要な構造が、レム睡眠中の活動によって変化しうること(可塑性)も明らかになっ

た。これらのことから、記憶の定着には、レム睡眠の大人の脳に存在する成長途上の新生ニューロンが持っているシナプスの可塑性が重要であることも示唆された (Kumar et al., Neuron, 107, in printing, 2020)。

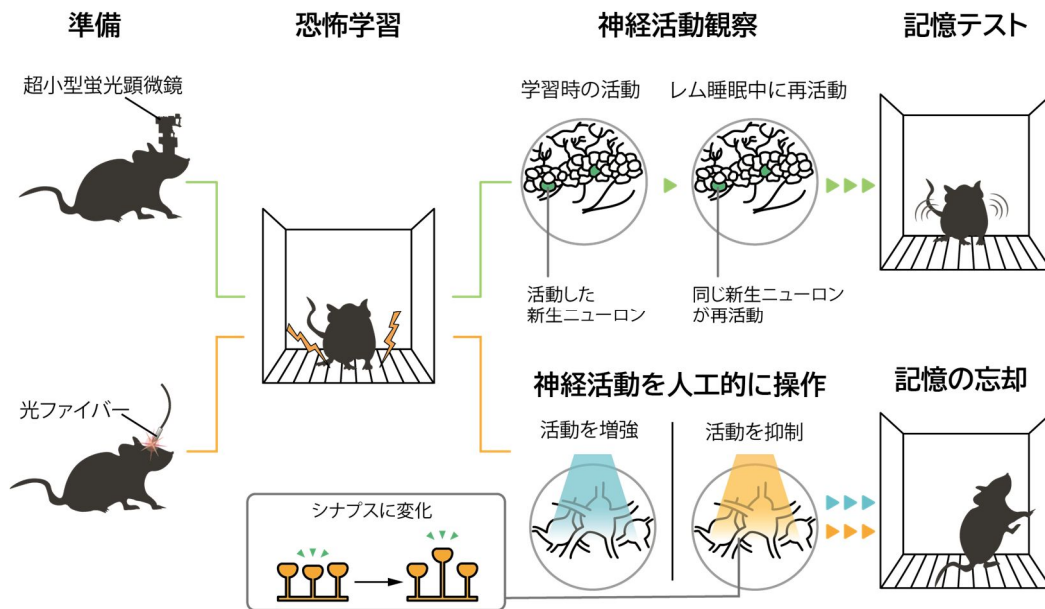


図 本研究に用いた実験手法と結果

特殊な顕微鏡で睡眠中の脳内を観察したところ、恐怖学習時とレム睡眠中で同じ新生ニューロンが活動していることが分かった。また、恐怖学習後のレム睡眠中に、新生ニューロンの活動を光で人工的に増強または抑制したところ、成長中の新生ニューロンの活動を抑制したときに限り、マウスが恐怖体験を忘れてしまうことを発見した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 5件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Srinivasan Sakthivel, Hosokawa Takuma, Vergara Pablo, Cherasse Yoan, Naoi Toshie, Sakurai Takeshi, Sakaguchi Masanori	4. 巻 517
2. 論文標題 Miniaturized microscope with flexible light source input for neuronal imaging and manipulation in freely behaving animals	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 520 ~ 524
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.07.082	査読の有無 有
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 該当する
1. 著者名 Kumar D, Koyanagi I, Carrier-Ruiz A, Vergara P, Srinivasan S, Sugaya Y, Kasuya M, Yu TS, Vogt K, Muratani M, Ohnishi T, Singh S, Teixeira CM, Cherasse Y, Naoi T, Wang Y, Nondhalee P, Osman BAH, Kaneko N, Sawamoto K, Kernie SG, Sakurai T, McHugh TJ, Kano M, Yanagisawa M, Sakaguchi M	4. 巻 107
2. 論文標題 Sparseactivity of hippocampal adult-born neurons during REM sleep is necessary for memory consolidation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuron	6. 最初と最後の頁 1-14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuron.2020.05.008 II	査読の有無 有
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
1. 著者名 Sakaguchi Masanori, Koyanagi Iyo, Akers KatherineG, Vergara Pablo, Srinivasan Sakthivel, Sakurai Takeshi	4. 巻 14
2. 論文標題 Memory consolidation during sleep and adult hippocampal neurogenesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neural Regeneration Research	6. 最初と最後の頁 20 ~ 20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4103/1673-5374.243695	査読の有無 有
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 該当する
1. 著者名 Akers Katherine G., Cherasse Yoan, Fujita Yuki, Srinivasan Sakthivel, Sakurai Takeshi, Sakaguchi Masanori	4. 巻 36
2. 論文標題 Concise Review: Regulatory Influence of Sleep and Epigenetics on Adult Hippocampal Neurogenesis and Cognitive and Emotional Function	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 STEM CELLS	6. 最初と最後の頁 969 ~ 976
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/stem.2815	査読の有無 有
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 該当する

1. 著者名 Purple Ross J., Sakurai Takeshi, Sakaguchi Masanori	4. 巻 7
2. 論文標題 Auditory conditioned stimulus presentation during NREM sleep impairs fear memory in mice	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 46247 ~ 46247
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/srep46247	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 該当する

1. 著者名 大石誠, 中島聡美, 坂口昌徳	4. 巻 25
2. 論文標題 The importance of acute intervention for preventing generalization in PTSD patients	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 1209-1210
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 坂口 昌徳	4. 巻 -
2. 論文標題 脳内で新生するニューロンと中枢神経再生への応用	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 ブレインサイエンスレビュー, 2016	6. 最初と最後の頁 263-279
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

〔学会発表〕 計20件 (うち招待講演 18件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 坂口昌徳
2. 発表標題 成体海馬の新生ニューロンが睡眠中に形成する連合記憶
3. 学会等名 成体脳ニューロン新生懇談会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 坂口昌徳
2. 発表標題 成体脳で再生を続けるニューロンが、睡眠中に恐怖記憶の固定化に果たす役割
3. 学会等名 医療心理懇話会第3回集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 坂口昌徳
2. 発表標題 Sleep and memory consolidation
3. 学会等名 日本睡眠学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 坂口昌徳
2. 発表標題 レム睡眠行動異常の早期発見技術開発
3. 学会等名 神経変性疾患と睡眠障害セミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 坂口昌徳
2. 発表標題 Memory consolidation during sleep and its mechanism for clinical insights
3. 学会等名 Asian Society of Sleep Medicine 2018 Congress（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masanori Sakaguchi
2. 発表標題 Memory consolidation during sleep and its mechanism for clinical insights
3. 学会等名 Asian Society of Sleep Medicine 2018 Cogress (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masanori Sakaguchi
2. 発表標題 Mechanism of memory consolidation during sleep
3. 学会等名 分子細胞情報学セミナー (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masanori Sakaguchi
2. 発表標題 Function of adult-born neurons during sleep
3. 学会等名 東京医科歯科大学教室セミナー (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masanori Sakaguchi
2. 発表標題 Adult-born neurons in memory consolidation during sleep
3. 学会等名 東北大学 Neuro Global 国際共同大学院プログラム (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masanori Sakaguchi
2. 発表標題 Mechanism of memory consolidation during sleep
3. 学会等名 NIPS conference: An approach to the integrative understanding of learning and memory (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masanori Sakaguchi
2. 発表標題 脳と心のフロンティア～「知」と「療」の連携
3. 学会等名 The 39th Japanese Society for Biological Psychology, The 47th Japanese Society for Neuropsychopharmacology (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masanori Sakaguchi
2. 発表標題 Function of the adult-born neurons for memory consolidation during sleep
3. 学会等名 The 20th KSBNS annual meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masanori Sakaguchi
2. 発表標題 Function of the adult-born neurons in memory consolidation during sleep
3. 学会等名 Department seminar, Peking University, Beijing, China (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kumar D, Hayashi M, Hayashi X, Changarathil G, Wintzer M, McHugh TJ, Sakurai T, Yanagisawa M, Sakaguchi M
2. 発表標題 The role of adult born neurons in memory consolidation during sleep-wake cycles
3. 学会等名 Society for Neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 坂口 昌徳, Deependra Kumar, 林 政信、大石 誠
2. 発表標題 マウス光遺伝学を用いたトラウマ記憶の脳内処理過程
3. 学会等名 医療心理懇話会演題 (招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Masanori Sakaguchi, Masanobu Hayashi, Makoto Oishi, Xifang Hayashi, Boran Osman, Sima Singh, Marie Wintzer, Thomas J. McHugh, Takeshi Sakurai, Masashi Yanagisawa, Deependra Kumar
2. 発表標題 Function of the adult-born neurons in memory consolidation during sleep
3. 学会等名 RIKEN PDFA Pizza and Science Seminars (招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Deependra Kumar, Masanori Sakaguchi
2. 発表標題 Function of the adult-born neurons in memory consolidation during sleep
3. 学会等名 Memory Meeting 2016 (招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Ruoshi Li, Takeshi Sakurai, Masanori Sakaguchi
2. 発表標題 The vulnerable period for a fear memory consolidation revealed by sleep deprivation
3. 学会等名 The vulnerable period for a fear memory consolidation revealed by sleep deprivation (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 坂口昌徳, Deependra Kumar, 林政信, 林細芳, Gopakumar Changarathil, Marie Wintzer, Thomas J. McHugh, 櫻井武, 柳沢正史
2. 発表標題 成体脳で新生するニューロンが、睡眠中の記憶の固定化に果たす役割
3. 学会等名 成体脳で新生するニューロンが、睡眠中の記憶の固定化に果たす役割 (招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Sakaguchi M, Kumar D, Hayashi M, Hayashi X, Changarathil G, Singh S, Wintzer M, McHugh TJ, Sakurai T, Yanagisawa M
2. 発表標題 The activity of adult born neurons are necessary for memory consolidation during sleep
3. 学会等名 NCTC seminar (招待講演)
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>研究室HP https://sakaguchi-lab.org/ ト라우マ記憶を弱めるには; マウスの記憶・睡眠研究から考えるPTSDケア https://academist-cf.com/journal/?p=5352 睡眠中にPTSDケア &#8212; ト라우マ記憶を音で消す&#8212;; http://wpi-iiis.tsukuba.ac.jp/japanese/press/1048 Publications list http://sakurai-sakaguchi.wpi-iiis.tsukuba.ac.jp/publications.html</p>

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	クマール ディーペンドラ (Kumar Deependra) (20747696)	筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・研究員 (12102)	