

令和 5 年 5 月 2 日現在

機関番号：13201

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15204

研究課題名（和文）睡眠/覚醒サイクルによるスマートフォゲッティングの神経細胞・シナプス機構

研究課題名（英文）Neuronal and synaptic mechanisms of smart forgetting by sleep/wake cycles

研究代表者

宮本 大祐（Miyamoto, Daisuke）

富山大学・学術研究部医学系・准教授

研究者番号：50748697

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000 円

研究成果の概要（和文）：睡眠はシナプスを再編して、記憶の定着と忘却の両方に作用する。従来の研究はシナプスを平均評価しており、記憶を担うシナプスの睡眠時動態は不明であった。そこで、本研究は生体マウスの大脳皮質において、個々のスパインを経時蛍光イメージングした。学習時にAMPA受容体量の増加したスパインは学習後の睡眠の影響を受けないのに対して、その他のスパインは睡眠時にAMPA受容体量が減少した。学習後の睡眠は、記憶容量を回復させるスマートフォゲッティングに寄与すると示唆される。また、学習と睡眠を通じて神経活動を長期計測するため、自由行動下及び頭部固定下における単一神経細胞の解像度のイメージング系を構築した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

成体脳の神経細胞数は殆ど増加しないため、脳は記憶容量を節約しながら学習する必要がある。そこで、本研究は生きたマウスの脳を顕微鏡観察して、記憶を担う個々のシナプスの強度を経時的に定量した。睡眠は学習により増強したシナプスを保護しながら、その他のシナプスを弱めることが分かった。睡眠は直前の学習情報を保ちながら、シナプスをクールダウンさせて記憶容量を回復させる役割があると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Sleep reorganizes synapses and acts on both memory consolidation and forgetting. Since previous studies evaluated the average synaptic dynamics, the sleep dynamics of synapses responsible for memory were unknown. Therefore, the present study was conducted by temporal fluorescence imaging of individual neurons and spines in the cerebral cortex of living mice. Spines with increased AMPA receptor levels during learning were unaffected by post-learning sleep, whereas other spines showed decreased AMPA receptor levels during sleep. It is suggested that synaptic plasticity due to post-learning sleep weakens the average synaptic strength but allows the retention of the immediately preceding learning information, resulting in smart fogging. In order to measure neural activity through learning and sleep over a long period of time, we constructed an imaging system for single neuron resolution under free-running and head immobilization conditions.

研究分野：行動神経生理学

キーワード：睡眠 記憶 神経細胞 シナプス イメージング 光遺伝学 マウス 受容体

1. 研究開始時の背景

本研究者は、生体マウスにイメージングと光操作を適用し、学習と睡眠の関係を研究してきた。従来の研究から、学習時の平均シナプス増強と睡眠時の平均シナプス抑圧が示唆されてきた。しかし、単一シナプスの解像度がなかったため、神経回路における学習と睡眠の相互作用は不明であった。

2. 研究の目的

覚醒時に学習すると、脳の神経細胞が活性化し、興奮性のシナプス伝達を担う樹状突起スパインにあるグルタミン酸受容体である AMPA 受容体の量が増加する。睡眠中には、学習した情報が再生される記憶の再生が起こる。しかし、睡眠中に記憶の再生がどのようにシナプス回路を再編成するのかはよく分かっていない。睡眠によって、記憶に関連する脳部位である大脳皮質や海馬のシナプスの大きさや AMPA 受容体の量が平均的に減少することが、電子顕微鏡による解剖学的手法やウェスタンブロッティングによる生化学的手法によって明らかにされてる。死後脳を扱う解剖学的手法や生化学的手法では、睡眠による記憶回路動態を追跡することは難しい。そこで、本研究では、生きたマウスの樹状突起スパインの AMPA 受容体をイメージングすることにより、睡眠による記憶回路動態を解析した。

3. 研究の方法

AMPA 受容体の GluA1 サブユニットを可視化するために SEP (Super Ecliptic pHluorin)-GluA1 を使用しました。SEP は pH 依存性の緑色蛍光タンパク質で、細胞膜上の機能性受容体を選択的に可視化することができる。神経細胞の形態を蛍光で可視化するために、赤色蛍光タンパク質 dsRed2 を使用した。子宮内エレクトロポレーションを E14.5 胚に適用し、SEP-GluA1 および dsRed2 の発現を誘導した。その後、成体マウスの頭蓋骨にガラス窓を設置した。そして、二光子顕微鏡を用いて、一次運動野の 2/3 層錐体細胞の房状樹状突起の 1 層において、運動学習期と睡眠期を通じて時間的イメージングを行った。

4. 研究成果

記憶の定着に睡眠を必要とする運動学習テストとして、Complex Wheel テストを使用した。運動学習はスパインの AMPA 受容体レベルを平均的に増加させた。一方、運動学習の前後に睡眠をとると、スパインの AMPA 受容体レベルは平均して減少した。運動学習によって AMPA 受容体レベルが特異的に増加した一部のスパイン (Max スパイン) は、運動学習後の睡眠または断眠の影響から保護された。一方、他のスパインは運動学習後の睡眠中に AMPA 受容体レベルの減少が見られ、この減少は断眠によって抑制された。運動学習後の AMPA 受容体レベルの低下は、運動記憶の成績と相関があった。これらの結果から、運動学習後の睡眠は、ほとんどのシナプスをクールダウンさせ、運動記憶を担うシグナルを相対的に強化することが示唆された。

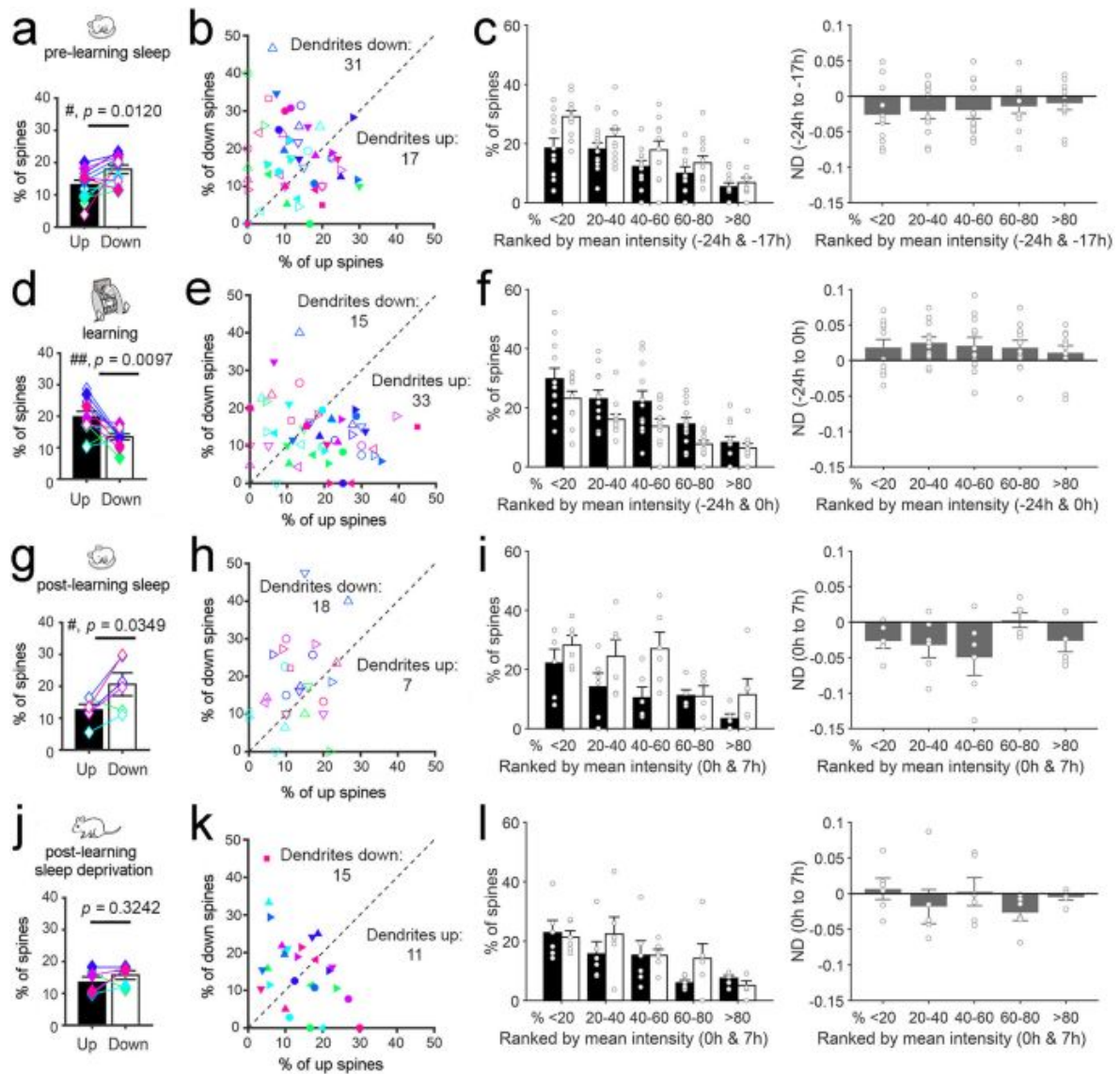


図1．学習や睡眠によるSEP-GluA1発現変化の単一スパイン解像度の解析

a, b 学習前の睡眠時におけるUp($ND > 0.15$)およびDown($ND < -0.15$)スパインの割合(a)アップおよびダウン樹状突起の割合(b), c 左: 各五分位群におけるスパインのアップ(黒棒)とダウン(白棒)の割合、右: 各五分位群におけるスパインSEP-GluA1発現のND(Normalized Difference ; mean $\pm$ SEM)。スパインは五分位に細分化し、x軸に示した2つの時点のSEP-GluA1発現量の平均値に基づいて強さをランク付けした($n=12$ マウス)。d-f 運動学習による変化($n=12$ マウス)。g-i 学習後の睡眠による変化($n=6$)。j-l 学習後の断眠による変化($n=6$)。a、d、g、jのp値は、two-sided paired sample t testを用いて計算したものである。b、e、h、kでは、各樹状突起枝におけるスパインの増加/減少/同調の割合は以下の通り(mean $\pm$ SEM、単位: %): 学習前睡眠による変化(-24時間 $\rightarrow$ -17時間): Up 12.3 ± 8.16 、Same 70.3 ± 12.2 、Down 17.4 ± 9.9 ; 学習による変化(-24時間 $\rightarrow$ 0時間): Up 17.0 ± 9.9 、Same 70.3 ± 12.2 、Down 17.4 ± 9.9 。Up 9 ± 10.9 、Same 68.7 ± 11.9 、Down 13.4 ± 7.62 ; 学習後の睡眠による変化(0時間 $\rightarrow$ 7時間): Up 12.4 ± 6.7 、Same 68.7 ± 15.4 、Down 18.9 ± 12.3 ; 学習後の断眠による変化(0時間 $\rightarrow$ 7時間): Up 13.8 ± 7.31 、Same 70.5 ± 9.7 、Down 15.7 ± 10.4 。(Miyamoto et al., Nat Commun, 2021より翻訳)

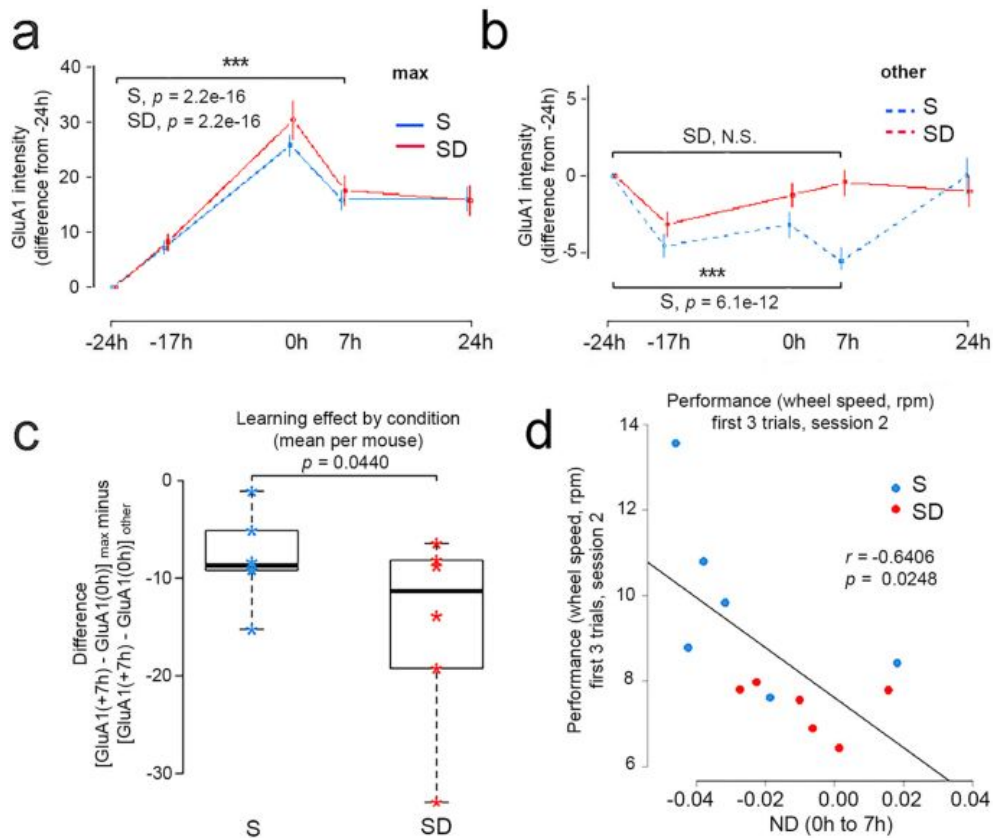


図2．運動学習後におけるmaxスパインとその他のスパインの変化

a 全イメージングセッションにおけるmaxスパインのSEP-GluA1強度(-24時間との差 (mean ± SEM))。 “maxスパイン”は、-24時間から0時間までで最大の増加を示したものと定義した。これらのスパインは、学習後に時間経過しても高いSEP-GluA1レベルを維持した(7時間 vs -24時間; 両群とも $p = 2.2 \times 10^{-16}$)。 S: 睡眠 (n=6マウス); SD: 断眠 (n=6マウス)。 b 全イメージングセッションにおける “maxスパイン” 以外の “その他のスパイン” におけるSEP-GluA1強度 (-24時間からの差) (mean ± SEM)。最初のトレーニングセッション後7時間の間、Sマウスの “その他のスパイン” は7時間対-24時間で減少を示すが ($p = 6.1 \times 10^{-12}$)、SDマウスの “その他のスパイン” は減少しない(7時間対-24時間、N.S.)。 a, bの統計解析は、セッションをカテゴリー的固定効果、スパイン、デンドライト、マウスをランダム効果として、線形混合効果モデルで行った。尤度比検定はセッションの効果を確認するために使用された。 c “maxスパイン” における0時間から7時間までのSEP-GluA1の変化と、その他のスパインにおける0時間から7時間までのSEP-GluA1の変化との差。群による有意な効果 (SまたはSD; 尤度比検定、 $p = 0.0440$) があり、SD群に比べてS群では “maxスパイン” が “その他のスパイン” に対して相対的に強まることを示している。 d 運動学習2日目の成績と、各マウスのスパインSEP-GluA1発現の7時間後 (SまたはSD後) と0時間後(学習直後)のND (Normalized Difference; mean ± SEM)の間には負の相関がある。(Miyamoto et al., Nat Commun, 2021より翻訳)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Miyamoto Daisuke, Marshall William, Tononi Giulio, Cirelli Chiara	4. 巻 12
2. 論文標題 Net decrease in spine-surface GluA1-containing AMPA receptors after post-learning sleep in the adult mouse cortex	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1 13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-021-23156-2	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 宮本大祐	4. 巻 Vol.47 No.8
2. 論文標題 運動記憶の固定化を担う睡眠時におけるシナプス選択的な皮質AMPA受容体の可塑性	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Medical Science Digest 特集「時間生物学と医療の融合—現状と将来—」	6. 最初と最後の頁 45-47
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 Miyamoto Daisuke	4. 巻 181
2. 論文標題 Optical imaging and manipulation of sleeping-brain dynamics in memory processing	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 9～16
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neures.2022.04.005	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 Miyamoto Daisuke	4. 巻 189
2. 論文標題 Neural circuit plasticity for complex non-declarative sensorimotor memory consolidation during sleep	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 37～43
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neures.2022.12.020	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 Inokuchi Kaoru, Miyamoto Daisuke	4. 巻 189
2. 論文標題 NSR special issue “The idling brain in cognition”	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 1～2
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neures.2023.02.007	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2件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Daisuke Miyamoto
2. 発表標題 In vivo imaging of cortical synaptic dynamics by learning and sleep.
3. 学会等名 第44回日本神経科学学会大会 / 第1回China-Japan-Korea国際会議（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Daisuke Miyamoto
2. 発表標題 In vivo imaging of synaptic renormalization during post-learning sleep.
3. 学会等名 第20回ヒューマン・フロンティア・サイエンス・プログラム受賞者会合（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021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

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			
米国	ウィスコンシン大学マディソン校			
カナダ	ブロック大学			