

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 20 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350988

研究課題名(和文) 情動による記憶形成機構

研究課題名(英文) Brain mechanism for memory formation of emotional experience

研究代表者

石川 淳子 (ISHIKAWA, Junko)

山口大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：30570808

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：強い情動を引き起こすような経験によって、海馬CA1にスーパーバーストが起こり、その後リップル様イベントの発生頻度と、活動電位が発生しないsilent periodが増加することが解った。これらの現象は、強い情動を誘発しないような経験では顕著に起きなかった。強い情動性経験によって、活動が高まる扁桃体基底外側核ニューロンがあり、これらのニューロンが海馬CA1の活動に強く影響していることが示唆された。また、経験後には海馬CA1のリップル様イベントと同調して、内側前頭前野にも類似のイベントが起きることが明らかとなり、記憶の固定に関与していることが示唆されている。

研究成果の概要(英文)：Emotional experiences are strongly retained in the memory. To elucidate this brain mechanism, neural activity before, during, and after emotional experiences was recorded. Hippocampal CA1 neurons of male rats exhibited spontaneous high frequency firing (super burst) during and soon after emotional experiences. Then, the number of ripple-like event and frequency of silent period in CA1 neurons was increased minutes after experiences. There were neurons in basolateral amygdala that excited correlated to emotional experiences, which might be influence on formation of super burst and ripple like event in CA1. Ripple-like events in CA1 and medial prefrontal cortex were synchronized after emotional experiences, which might be associated with memory consolidation. These observations would be involved in memory formation of emotional experiences.

研究分野：神経生理

キーワード：情動 記憶形成

1. 研究開始当初の背景

喜び・恐怖などの「情動」を伴う経験は、強固に記憶形成・保持されるが、そのメカニズムは解っていないことが多い。強烈な情動により成立した記憶は、心的外傷後ストレス障害やギャンブル・薬物依存を誘発する原因となり、個体の思考や行動に強い影響を与える。これまでの研究報告で、記憶の成立には海馬長期増強とリプル波が重要であることが解っているが、記憶成立過程におけるこれらの生体内発生を直接的に証明した報告は無い。申請者は、成熟雄ラット海馬CA1 ニューロン活動の神経活動記録を行い、強い情動を伴う異性との初交流経験によってスーパーバーストが起きることと、リプル波が増加することを発見した。興味深いことに、新奇オブジェクトや同性ラットとの交流では、これらの現象は顕著ではなかった。このことから、記憶形成メカニズムが「情動」の大きさや性質の違いに影響されていることが示唆された。学習・記憶・情動には、海馬・前頭前皮質・扁桃体の機能関与がある。この3領域間には各々強い神経連絡があることから、情動による記憶成立には3脳領域が協調的に機能している可能性がある。これまでに、情動の中樞である扁桃体の興奮が海馬長期増強の形成に促進的に働くことが報告されている。一方、内側前頭前皮質のニューロン活動は、扁桃体と海馬の同時刺激でより興奮性が高まることが知られている。記憶の場を海馬から皮質に移行して記憶を固定するのに、内側前頭前皮質のニューロン活動と海馬リプル波の同調が重要であると一部で考えられているが、この際、扁桃体が興奮していると、内側前頭前皮質-海馬間のシナプスが強化され、より強固に記憶が固定される可能性がある。以上のことより、情動性経験の記憶形成機構の全貌を解明するためには、これら3脳領域の神経活動特性を調べることが重要であると考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、海馬・扁桃体・内側前頭前皮質に注目して、「情動による記憶成立」メカニズムを神経生理学的に明らかにするため、3脳領域について下記のことを行う。

[1] 情動による記憶成立過程における3脳領域のニューロン活動特性を明らかにする

3脳領域ニューロン活動の長時間同時記録により記憶形成過程の各脳領域の機能動作を追跡する。「各脳領域に特徴的なニューロン活動特性が存在するか？」また、「特徴的なニューロン活動特性を示す際の他の2脳領域の神経活動はどのようになっているのか？」に重点をおいて検証を行うことにより、記憶形成に関わるニューロン活動特性の検出のみならず、3脳領域間相互作用の見当をつける。

[2] [1]で検出したニューロン活動特性が、記憶形成に機能関与していることを確認する。

[3] 記憶形成過程における3領域間神経回路の機能動作を明らかにする記憶形成過程で1脳領域を一時的に不活性化すると、他の脳領域のニューロン活動特性と記憶形成にどのような影響が出るかを検証する。

[4] 情動の性質や大きさによる記憶成立機構の違いを明らかにする 異性、同性、新奇オブジェクトとの初交流、拘束ストレスの4種類の記憶成立について[1]～[3]の検証を行う。

3. 研究の方法

本研究では、下記に記す4種類の記憶形成機構を成熟雄性Sprague-Dawleyラットにて検証した。

異性との初交流・・・雄性ラットのホームケージに雌性ラットを10分間入れる。

同性との交流・・・雄性ラットのホームケージに雄性ラットを10分間入れる。

新奇オブジェクトとの交流・・・雄性ラットのホームケージに新奇オブジェクトを10分間入れる。

拘束ストレス・・・雄性ラットの四肢を紐

でしばり、10分間台に大の字にはりつけにする。

< 神経活動記録 >

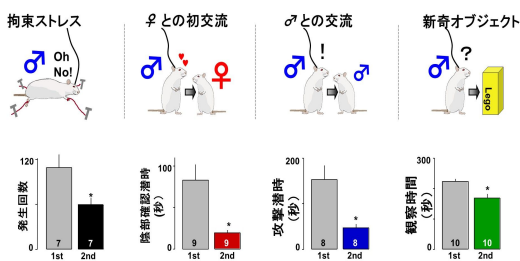
海馬はプレリミナリー実験で記録を行っているCA1 領域、内側前頭前皮質は海馬リップル波との同調活動や扁桃体との相互神経連絡が知られている腹側部、扁桃体は海馬CA1 領域や内側前頭前皮質腹側部と相互神経連絡がある基底外側核に記録電極の埋め込み手術を行った。一週間の回復期間を届け、2~3週間ハンドリングを行った後に神経活動記録実験を行った。実験では、各経験10分間と、経験前15分、経験後30分間のホームケージにおける活動を記録した。

< 記憶成立の確認 >

ニューロン活動記録を行った翌日、 ~ については各記憶対象をホームケージに再度入れて(5分間)、 は陰部確認までの潜時間、 は攻撃するまでの潜時、 は観察時間を計測した。 については、もう再度拘束ストレスを施した際の発生回数を数えた。全ての実験プロセスが終了した後、ソムノペンチルにて動物を深麻酔し、4%パラホルムアルデヒドにて脳の遺流固定を行った。その後、40 μmの冠状切片を作製し、HE染色を行って、電極刺入位置を確認した。

4 . 研究成果

< 記憶成立 >



(図 1)

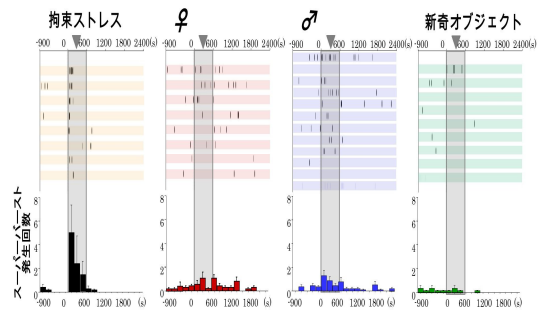
各経験の 24 時間後に再度同じ経験をしたときの行動を観察した。

2 回目の経験時には、初回の経験時に比べて、拘束ストレスによる発生回数、雌ラット

の陰部確認までの潜時、雄ラット攻撃までの潜時、新奇オブジェクトの観察時間が有意に減少していた (図 1)。

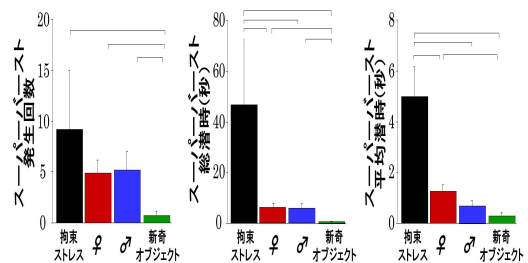
< 神経活動特性 >

・海馬 CA1



(図 2)

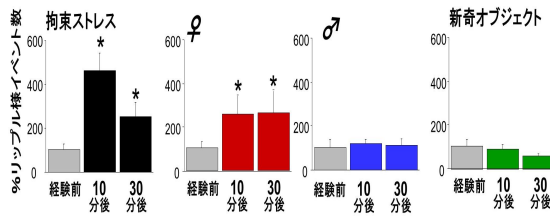
拘束ストレスでは開始直後にスーパーバーストが何度も起きた。雌ラットや雄ラットとの初交流では、交流時だけでなく交流後も散発的にスーパーバーストが起きた。一方、新奇オブジェクトではスーパーバーストの発生が顕著に起きなかった (図 2)。



(図 3)

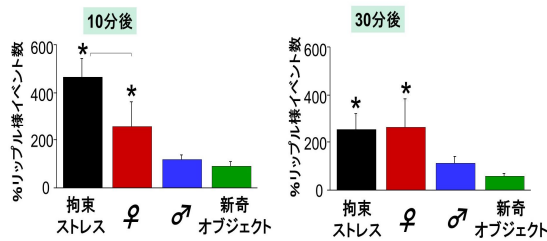
また、スーパーバーストの発生回数、総潜時、一回平均潜時を経験間で比較したところ、発生回数は拘束ストレスが最も多く、新奇オブジェクトとの交流が最も少なかった。同様に、総潜時、一回平均潜時も拘束ストレスが最も長く、発生回数は拘束ストレスが最も多く、新奇オブジェクトとの交流が最も短かった (図 3)。

次に、リップル様イベントの数を経験前と経験 10、30 分後で比較した。拘束ストレスと雌ラットとの初交流では経験前に比べて経



(図4)

験後のリップル様イベントの発生回数が有意に増えていたが、拘束ストレスでは10分後、雌ラットとの初交流では30分後の発生回数が最も多かった。雄ラットや新奇オブジェクトとの交流ではリップル様イベントの顕著な増加は認められなかった(図4)。

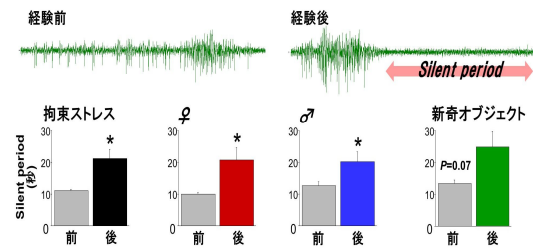


(図5)

また、経験後のリップル様イベントの発生回数を経験間で比較したところ、拘束ストレス後と雌ラットとの初交流後のリップル様イベントの発生回数は、雄ラットや新奇オブジェクトとの交流後よりも有意に高かった。また経験10分後では、拘束ストレスのほうが雌ラットとの初交流よりも発生回数が多かった(図5)。

パッチクランプの実験により、拘束ストレス、雌ラットとの初交流、雄ラットとの交流後には興奮性シナプスが強化されていることが解った。つまり、これらの経験により、記憶学習に重要であると考えられている長期増強が起きていると考えられた。また同様に、記憶・学習に重要な役割を果たしていると考えられているリップル波の発生には長期増強が必要であると考えられている。海馬長期増強はシナプス前繊維を高頻度刺激することで起きるが、生体内でこの刺激に該当するようなイベントはまだ報告されていない。申

請者が記録したスーパーバーストが長期増強の発生に関連したイベントであると推測され、スーパーバーストがリップル様イベントの発生に関与している可能性がある。このため、この2つのイベントの関連性を調べた。スーパーバーストの発生回数とリップル様イベントの発生回数には相関がなかったものの、スーパーバーストの総潜時と一回平均潜時はリップル様イベントの発生回数と相関があった。このことから、スーパーバーストがリップル様イベントの発生に関与していることが推測された。



(図6)

経験前では散発的な神経活動が見られていたが、活動が一定期間なくなるsilent periodが頻繁に認められた。一方、パッチクランプによる実験で、4種類すべての経験の後に抑制性シナプスが強化されていることが解ったため、このことがsilent periodの形成に関与していることが推測された。本研究ではsilent periodが記憶形成に関与している可能性があると考え、この現象を解析した。拘束ストレス、雌ラットとの初交流、雄ラットとの交流後にはsilent periodが有意に増加していた。また、新奇オブジェクトとの交流後には増加傾向にあった(図6)。

- ・内側腹側前頭前野

情動性経験の後、海馬CA1リップル様イベントに同調して同じようなイベントが発生することが解った。

- ・扁桃体基底外側核

情動性経験中、直後には活動が高まる神経細胞が検出された。

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1件)

Ishikawa J, Nishimura R, Ishikawa A.
Early-life stress induces anxiety-like behaviors and activity imbalances in the medial prefrontal cortex and amygdala in adult rats. (査読有り)
Eur J Neurosci. 41, 2015, 442-453.
Doi:10.1111/ejn.12825.

[学会発表](計3件)

石川淳子、美津島大、Real-time change of neural activity in hippocampal CA1 after the experienced episodes: restraint stress and first encounters with female, male, and object、Society for neuroscience annual meeting, 2016年11月12日~11月16日、San Diego, USA

石川淳子、美津島大、情動性エピソード前後における海馬神経活動のリアルタイム変化、第25回海馬と高次脳機能学会、2016年10月1日から10月2日、同志社大学室町キャンパス、京都府、京都市

石川淳子、美津島大、情動性エピソード前後における海馬CA1神経活動のリアルタイム変化：自発性高頻度発火に続くリップル波の多様化、第93回日本生理学会大会、2016年3月22日~3月24日、札幌コンベンションセンター、北海道、札幌市

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

石川 淳子 (ISHIKAWA, Junko)
山口大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号：30570808

(2)研究分担者

美津島 大 (MITSUSHIMA, Dai)
山口大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：70264603

(3)連携研究者

なし