

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K06698

研究課題名(和文) 相反する記憶による葛藤をコントロールする神経回路の解明

研究課題名(英文) Elucidation of neuronal networks to control conflicts between different memories

研究代表者

松嶋 藻乃 (Matsushima, Ayano)

東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・客員研究員

研究者番号：10706740

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、既存の活動依存的プロモータに改変を加え、特定細胞種における活性化状態と非活性化状態を区別できるベクターシステムを構築した。さらに、PV-Creマウスと組み合わせることにより、これらの2つの状態で、逆方向に活動操作をする手法を樹立した。それを海馬CA1領域に適応したところ、PV神経細胞には、発生時期に関連して活動レベルの異なる群が存在し、それらによって形成・維持される活動ダイナミックレンジが探索行動において重要であることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：In this study, we modified already-existing activity-dependent promoter to dissect active and inactive subpopulations within a neuronal population defined by a promoter. By combining the modified activity-dependent promoter and Boolean logical operation using multiple recombinases, we succeeded in manipulating their activities in opposite direction. Here, we applied this method to CA1 region of PV-Cre mice. Activity-dependent division of PV+ neurons revealed the existence of endogenous activity gradient that is programmed developmentally, and this gradient contributes to the coherent locomotion on the environmental geometry.

研究分野：Neuroscience

キーワード：E-SARE

1. 研究開始当初の背景

脳内に存在する数百億ともいわれる神経細胞は、発生学的にも機能的にも極めて多様である。近年、細胞腫特異的プロモータ下に Cre リコンビナーゼを発現する、多くの遺伝子改変マウスが開発されたことにより、1つの遺伝子で規定される細胞群の機能を調べることが可能になった。しかし、ある1つの遺伝子の発現に基づいて、均一な細胞群を定義できることは稀であり、多くの場合、その中にも、多様性のあるヘテロの細胞集団・細胞群を内包することも稀ではない。そこで本研究では、このような一つの遺伝子マーカーで定義される細胞群内に潜む活動水準の多様性とその機能的意義理解の可能性を探った。

2. 研究の目的

本研究では、1つの細胞種内での活性状態の不均一性を解明する方法論を確立し、活動ダイナミックレンジの維持の生理的意義を示そうと試みた。より具体的には、まず、既存の活動依存的プロモータに新たな改変を加えることで、活動水準が一般に高いとされるパルバルブミン(PV)陽性抑制性神経細胞の中でも、ある時期に活性化状態と非活性化状態に分かれている細胞群を選択的に標識することを目指した。そして、活動レベルの低い群と高い群で、逆方向的に活動を操作することで、活動ダイナミックレンジを維持・破綻させ、記憶学習行動の一つである探索行動パターンへの影響を調べることにした。

3. 研究の方法

まず、既存の活動依存的プロモータ

(Kawashima et al., Nature Methods 2013)に、種々の改変を加え、生理的に起こりうる活性化状態と非活性化状態を区別できるよう、シグナル・ノイズ比を高めた。

次に、PV-Cre マウスにて、E-SARE 変異人工プロモータの下流で Flp リコンビナーゼを発現する AAV ベクターを組み合わせ、PV 神経細胞の活動レベルの低い群と、高い群を分別的に標識した。

最後に、活動促進型または抑制型の DREADD (Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drug)を、Cre 陽性の細胞内でのみ、活動レベルに依存して発現させ、探索行動中の活動ダイナミックレンジを操作した。

4. 研究成果

種々の改変を加えた活動依存的プロモータ、E-SARE2 の性能評価のため、第一次視覚野で入力依存性・活動応答性の検討をおこなった。そうしたところ、視覚入力(つまり活動)の有無、および、タモキシフェン投与の有無、の両者に依存して、レポート発現を促せることが再確認された。更に、生理的に起こりうる、視覚野の高活性状態と低活性状態とをそれぞれ標識したところ、分別性能が、改変により向上していることがわかった。

そこで、次にこれを利用して、活動レベルが一般に高いとされるパルバルブミン(PV)陽性抑制性神経細胞群の中でも、活動水準の高い細胞群と、活動水準の低い群とを、区別して標識可能な条件を見出した。この条件を用いて、活動水準の高い群を選択的に標識す

ることを試みた。その結果、PV 陽性神経細胞の基底状態における活動水準の高低が、発生学的に生まれる時期と密接な関係があることが明らかになった。

最後に、1つの細胞種内での活動水準のダイナミックレンジ維持の重要性を明らかにするため、PV 陽性細胞群内で活動水準の低い群と高い群で、順方向または逆方向的に活動を操作した。具体的には、本来 PV 陽性細胞群間で有している活動ダイナミックレンジを平坦化し逆転させる操作手法を実現するためには、活動水準の高い群には抑制型 DREADD、低い群には促進型 DREADD を発現させる AAV ベクターカセットを投与した。逆に、活動ダイナミックレンジを亢進させ拡大するための操作手法も編みだし、活動水準の高い群には促進型 DREADD、低い群には抑制型 DREADD を発現させる AAV ベクターカセットを投与した。その結果、海馬 CA1 領域において、PV 陽性抑制性細胞群内の活動ダイナミックレンジの破綻により、探索行動パターン・場所記憶に有意な変化が生じることが明らかになった。

これらの成果は、抑制性細胞細胞種の活動レンジ維持の重要性を示唆するものであり、抑制性回路の局所動態制御ルール的一端を解明し、精緻な記憶制御機構をより詳細に理解する糸口が得られたと考えられる。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

全て査読あり

Nonaka, M., Kim, R., Sharry, S.,

Matsushima, A., Takemoto-Kimura, S., Bito, H. (2014d) Towards a better understanding of cognitive behaviors regulated by gene expression downstream of activity-dependent transcription factors. *Neurobiol Learn Mem.* 115, 21-29.

〔学会発表〕(計 1 件)

Bito H, Kim R, Inoue M, Nonaka M, Ishii Y, Sakai K, Kawashima T, Yagishita-Kyo N, **Matsushima A**, Kamijo S, Okamura M, Goto M, Endo T, Horigane S, Okuno H, Takemoto-Kimura S, Fujii H. Postsynaptic mechanisms underlying activity-dependent adaptation of glutamatergic synapses. 第 93 回日本生理学会大会シンポジウム、札幌コンベンションセンター、2016 年 3 月 22-24 日

〔図書〕(計 0 件)

〔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

6 . 研究組織

(1)研究代表者

松嶋 藻乃 (MATSUSHIMA, Ayano)

東京大学・大学院医学系研究科・客員研究員

研究者番号：10706740

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

なし