

令和 4 年 4 月 15 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K15910

研究課題名（和文）感覚入力による記憶回路固定化機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of systems consolidation mechanisms underlying memory trace formation by sensory inputs

研究代表者

湊原 圭一郎（MINATOHARA, KEIICHIRO）

東京大学・大学院医学系研究科（医学部）・助教

研究者番号：30740237

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：マウスの学習課題の一つである恐怖条件付けにより、新奇環境暴露刺激などの感覚刺激と足下への電気ショック刺激とかマウス脳内で連合され、感覚刺激に対する恐怖記憶を形成します。その結果、感覚刺激の提示だけでも恐怖記憶が想起されます。この記憶の形成のために脳内では神経ネットワーク変化により記憶痕跡回路が形成されます。本研究課題では広範囲の神経活動イメージングと神経活動操作実験により、記憶痕跡回路形成において重要な役割を果たす感覚受容神経細胞群を特定することに成功しました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

種々の感覚刺激が脳内で統合され、記憶痕跡回路が脳内で形成されることで感覚刺激の提示に対する反応性が変化します。本研究では広域の神経活動イメージングを実施することにより、この感覚統合に重要な役割を果たす脳内の新規神経細胞群を特定することに成功しました。それにより感覚統合および記憶形成の新規メカニズムを提唱することが可能となりました。また認知症など認知機能が低下する場面での病態メカニズムに対する新たな視点を与える可能性を有しています。

研究成果の概要（英文）：Fear conditioning is one of the learning tasks, in which sensory stimuli such as novel environment exposures and electric foot shock are combined in the brain to organize fear memories of the sensory stimuli. As a result, fear memories are recalled even when sensory stimuli are presented alone. For the memory formation, a memory trace is organized in the brain by changing the neuronal network. In this research project, we succeeded in identifying a group of sensory-processing neurons that play an important role in the formation of memory traces revealed by wide-field neural activity imaging and neural activity manipulation experiments.

研究分野：神経科学

キーワード：記憶・学習 感覚入力 神経ネットワーク 認知機能 記憶痕跡回路

1. 研究開始当初の背景

恐怖条件付け学習は手がかり刺激と電気ショックを組み合わせる学習させ、その後、手がかり刺激を提示するだけで恐怖記憶を思い出させる学習課題である。この学習の成立のために脳内では記憶回路形成に関わる神経細胞の可塑的变化が生じる。すなわち記憶とは脳への刺激に応答した一部の神経細胞群が可塑的变化を起こし、記憶痕跡回路を形成することであると捉えることができる。また、2011年ごろから *c-fos* や *Arc* などの前初期遺伝子を発現する一部の活性化神経細胞群が記憶痕跡回路（記憶エンGRAM）を形成することが明らかになった（Liu et al., Nature 2011; Kitamura et al. Science 2017）。前初期遺伝子は感覚入力などの脳への刺激に応答してその発現が誘導されるのだが、これらの発現細胞が記憶エンGRAMへと変化する神経回路機序に関しては不明な点が多い。とくに大脳皮質には様々な感覚刺激を受容する神経細胞群が存在するが、それらの中でも記憶回路を形成する際にハブとなる神経細胞が存在しているのかを検証する。

2. 研究の目的

我々は広視野2光子Caイメージングを用いて大脳皮質の高次の連合野内で大脳皮質での記憶回路形成のハブとなる可能性のある神経細胞群を探索したところ、手がかり刺激に鋭敏に反応する、密集した神経細胞群を同定した。これらの細胞は学習の有無にかかわらず手がかり刺激に鋭敏に応答し、そして連合野領域に存在することから、感覚情報とその他の情報を統合する可能性を有している。さらに恐怖条件付け学習によってこれらの細胞と同調して発火する神経細胞が大脳皮質内の複数の領域に現れるようになることも見出している。したがって感覚受容細胞が大脳皮質での記憶回路形成に重要な役割を果たすのかを検証することを目的とする。さらに認知機能が低下するモデルマウスにおいて、大脳皮質神経細胞がシナプス異常を示すのかどうかも合わせて検証する。

3. 研究の方法

(A) 神経活性操作による感覚受容細胞の記憶想起への寄与の検証。

感覚受容細胞の神経活動が記憶の形成に必要なかを明らかにする。まず、感覚受容細胞を有する脳領域に Chemogenetics ツールである hM4Di を AAV ウイルスベクターを用いて発現させ記憶形成時に CNO の投与で神経活動を抑制させた。手がかり刺激を提示させ活性化される感覚受容細胞の活動を抑制させることで記憶の形成が阻害されるか検証した。

(B) 感覚受容細胞ネットワークと学習効率との相関解析。

神経活動イメージングによる感覚受容神経細胞の同定実験とそれらの細胞と同期発火する神経細胞群を同定する。神経活動イメージング実験では大脳皮質内で感覚入力に対して反応する個々の神経細胞の同定を試みた。そのために単一細胞の解像度を有する、多細胞同時神経活動測定法を実施した。学習後、大脳皮質において感覚受容細胞と同調して発火する神経細胞群を見出した。その神経ネットワークの形成効率と、個々のマウスの学習スコアとの関連性を相関解析で検証した。

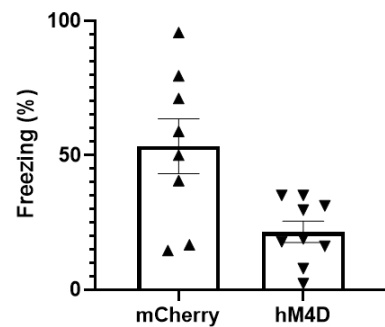
(C) 認知機能低下モデルマウスにおける大脳皮質神経細胞のシナプス病態解析。

変性タウタンパク質を過剰発現するタウオパチーモデルである rTg4510 マウスが認知機能の低下、すなわち恐怖条件付け学習の成績が低下するかどうか検証した。また、rTg4510 マウスの大脳皮質神経細胞に認知機能の低下に関連したシナプス病態が見られるかどうかを検証するため、超解像顕微鏡法を用いてシナプスの微細構造である樹状突起スパインの密度と形態に関して詳細に解析した。神経細胞の蛍光標識のため rTg4510 マウスの大脳皮質に AAV ベクターを用いて tdTomato 赤色蛍光タンパク質を散発的に強制発現させた。固定脳標本を作製し、超解像イメージングを実施して3次元画像解析ソフトウェアを使用して得られた樹状突起スパインの蛍光画像から形態情報を抽出して解析した。

4. 研究成果

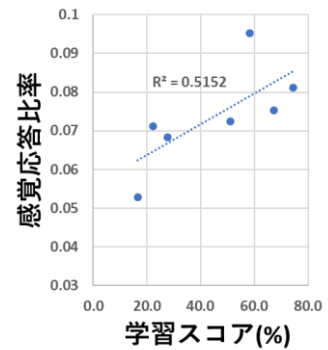
(A) 神経活性操作による感覚受容細胞の記憶想起への寄与の検証。

感覚受容細胞存在脳領域に抑制性 DREADD である hM4Di-mCherry を発現させたマウスとコントロールの mCherry 発現マウスを作製した。これらのマウスに対して恐怖条件付け学習時に DREADD アゴニストを投与して神経活動を抑制させた。その結果コントロール群に比べて hM4Di 発現マウス群では有意に学習効率が低下した (右図)。この神経活動を操作した脳領域は感覚受容細胞が存在するため、この結果によって感覚受容細胞の神経活動が、感覚刺激統合学習課題の記憶形成に必要であることが示唆された。



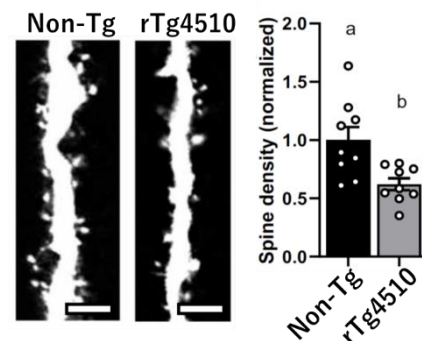
(B) 感覚受容細胞ネットワークと学習効率との相関解析。

広視野神経活動イメージングを用いて恐怖条件付け学習前後の神経活動パターンの比較解析を行った。その結果、学習により感覚受容細胞と同期した活動を示す大脳皮質領域間ネットワークが形成されることを見出した。さらに個々のマウスの学習スコアと、感覚受容神経細胞ネットワークの大きさとの相関解析を実施したところ、特定の脳領域において双方が相関することを見出した (右図)。したがって恐怖条件付け学習により学習の程度に応じてマウス大脳皮質間の新規ネットワークが形成されることが示唆された。



(C) 認知機能低下モデルマウスにおける大脳皮質神経細胞のシナプス病態解析。

rTg4510 系統タウオパチーモデルマウスとコントロールの野生型マウス (Non-Tg マウス) に対して恐怖条件付け学習課題を遂行させた。その結果 rTg4510 マウスにおいて学習スコアが低下することが見出された。さらに大脳皮質の神経細胞を蛍光標識し、その樹状突起スパインの構造を可視化したところ、rTg4510 マウス神経細胞の樹状突起スパインの密度の低下および微細構造の縮小が観察された (右図)。以上により認知機能が低下する rTg4510 マウスにおいてシナプス病態が観察され、大脳皮質の神経ネットワークが認知機能の保持に重要な役割を果たす可能性が示唆された。これらの結果は 2021 年に国際誌で論文公表した (Science Advance, 2021)。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Sato Hideaki, Takado Yuhei, Toyoda Sakiko, Tsukamoto-Yasui Masako, Minatohara Keiichiro, ..., Kitamura Akihiko, Higuchi Makoto	4. 巻 7
2. 論文標題 Neurodegenerative processes accelerated by protein malnutrition and decelerated by essential amino acids in a tauopathy mouse model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/sciadv.abd5046	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 Terashima Hiroshi, Minatohara Keiichiro, Maruoka Hisato, Okabe Shigeo	4. 巻 71
2. 論文標題 Imaging neural circuit pathology of autism spectrum disorders: autism-associated genes, animal models and the application of <i>in vivo</i> two-photon imaging	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microscopy	6. 最初と最後の頁 i81 ~ i99
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/jmicro/dfab039	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 Shimojo Masafumi, Takawa Hiroyuki, Takado Yuhei, Tokunaga Masaki, Tsukamoto Satoshi, Minatohara Keiichiro, Ono Maiko, Seki Chie, Maeda Jun, Urushihata Takuya, Minamihisamatsu Takeharu, Aoki Ichio, Kawamura Kazunori, Zhang Ming-Rong, Suhara Tetsuya, Sahara Naruhiko, Higuchi Makoto	4. 巻 40
2. 論文標題 Selective Disruption of Inhibitory Synapses Leading to Neuronal Hyperexcitability at an Early Stage of Tau Pathogenesis in a Mouse Model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 3491 ~ 3501
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1523/JNEUROSCI.2880-19.2020	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

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Keiichiro Minatohara, Haruhiko Bito, Shigeo Okabe, Hiroyuki Okuno
2. 発表標題 Fear memory recall facilitates spine formation in the activated neurons inducing the immediate-early gene Arc in the mouse hippocampus
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 K. MINATOHARA, S. OHNAMI, S. OKABE, H. BITO, H. OKUNO
2. 発表標題 Association of a neutral contextual memory with a fearful experience induces synapse formation selectively in Arc-expressing neurons of the mouse retrosplenial cortex
3. 学会等名 SfN Global Connectome (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 湊原 圭一郎
2. 発表標題 統合デコーディングを目指した2光子脳機能イメージング
3. 学会等名 第3回グリアデコード領域会議
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 湊原 圭一郎
2. 発表標題 マウス脳マルチスケールイメージングによる記憶形成基盤解析
3. 学会等名 CiSHuB公開講義 人間研究のための基礎知識 (招待講演)
4. 発表年 2020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
---------	---------