

令和 6 年 5 月 30 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02588

研究課題名(和文) グリアエングラムの同定と回路機能的意義の解明

研究課題名(英文) Identity and circuit functions of glia engrams

研究代表者

長井 淳(Nagai, Jun)

国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・チームリーダー

研究者番号：60892586

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：行動変化に伴う神経活動を遺伝学的に標識し、活動パターンを再現する実験系により、行動と神経活動の因果関係が明瞭に検証できるようになった。本研究では、「特定の記憶でのみ活性化するグリアエングラムが存在する」という仮説を検証した。独自に確立した全脳レベルのアストロサイト活動依存的な外来遺伝子発現誘導系を用いた行動/状態特異的な全脳アストロサイト活動分布をもとに、全脳および特定領域のグリアエングラム摂動実験を行うことにより、行動時のアストロサイト活動の相関および因果律を明らかにし、アストロサイトエングラムの存在を示唆する結果を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々の経験は脳内で情報処理され、記憶として蓄積される。脳細胞の相互作用により、記憶は形成あるいは消失するが、この詳細な細胞・分子基盤は明らかになっていない。脳細胞は神経細胞のみならず、多様なグリア細胞や血管からなっており、これら総体的な細胞ネットワークの動態と機能メカニズムを記述することは、記憶のしくみを解明し人間の心理や健康を深く理解する鍵となるばかりでなく、学習や記憶障害を持つ人々への治療法の開発が可能になり、アルツハイマー病のような病気の予防や治療に繋がる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Experiments that genetically label neural activity associated with behavioral changes and recapitulate activity patterns have made it possible to clearly test the causal relationship between behavior and neural activity (e.g., memory trace [engram] cells). On the other hand, no attempt has been made to capture and replicate the activity patterns of the glia, which exists in the brain and interact with neural circuits. Therefore, in this study, we tested the hypothesis that there is a glial engram that is activated only in specific memories. We conduct glial engram perturbation experiments in the whole brain and specific regions based on behavior/state-specific whole-brain astrocyte activity distributions using a uniquely established whole-brain-level astrocyte activity-dependent exogenous gene expression induction system. By doing so, we clarified the correlation and causality of astrocyte activity during behavior.

研究分野：神経科学

キーワード：グリア 記憶

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

行動変化に伴う神経活動を遺伝学的に標識し、活動パターンを再現する実験系により、行動と神経活動の因果関係が明瞭に検証できるようになった(例: 記憶痕跡[エンGRAM]細胞)。一方、脳において神経回路と交錯して存在するグリアネットワークについては、活動パターンを捕捉し、再現する試みはなされていなかった。アストロサイトは哺乳類の中枢神経系にタイル状に存在するグリア細胞の一種であり、神経回路活動の入出力を制御する細胞として考えられている。しかし、行動中の動物におけるその活動パターン・分布や詳細な機能については未解明な点が多く残されている。

2. 研究の目的

本研究では、「特定の記憶でのみ活性化するグリアエンGRAMが存在する」という仮説の検証を目的とする。具体的には、

- (1) グリアの一種であるアストロサイトに着目し、BAE (behavior/state-activated astrocyte ensemble) の標識・介入操作を可能にする新たな遺伝学系ツールの開発を行う。
- (2) BAE ツールを用いて、ストレスおよび報酬刺激に応答するアストロサイト亜集団(“ストレスBAE” “報酬BAE”)が、行動・回路活動に寄与するかを明らかにする。

本研究で確立を目指すBAE標識・操作系は、これまで問題であった観察と操作の乖離を解決する。いかなる行動アッセイにも汎用性があるため、国内外における共同研究を推進し、アストロサイトと神経回路を含めた“脳回路”研究の新展開創出に貢献する可能性がある。さらに、本研究はアストロサイトに根差した精神状態メカニズムの一端を明らかにすることを目的とし、学術・創薬・臨床各方面に資するものである。

3. 研究の方法

マウスやウイルスベクターを用いた遺伝学やアストロサイト特異的摂動法を基軸に、全脳アストロサイト活動イメージングと条件付け恐怖記憶アッセイを組み合わせた実験系を用いた。これにより、アストロサイト活動依存的に様々な外来遺伝子(蛍光蛋白質や光・薬理遺伝学プローブなど)を行動パラダイム特異的に発現誘導することができ、活動アストロサイトの詳細な全脳分布の可視化、さらには光遺伝学・薬理遺伝学を駆使しての活動興奮・抑制の誘導などの遺伝学的神経活動操作を行うことが、世界で初めて可能となった(図)。

4. 研究成果

(1) BAE ツールの確立

まず、①PHP. eB カプシド AAV にパッケージングした全脳レベルのウイルス感染の確立、②アストロサイト特異的ベクターによる85-97%のアストロサイト特異性およびペネトレーションの確認、③局所回路に発現させたDREADDによるアストロサイト活動依存的な外来遺伝子発現誘導の確認を行なった。さらに、大阪大学の笠井淳司博士らと共同で、アストロサイトの全脳イメージング、3D撮像、解析インフォマティクスのプラットフォーム構築を行った。

(2) BAE 全脳マッピング

次に、確立した全脳レベルのアストロサイト活動依存的な外来遺伝子発現誘導系を用いて、行動/状態特異的な全脳アストロサイト活動のマッピングを行った。具体的には、恐怖条件づけ記憶の記銘及び想起の過程を伴うマウスモデルを用いた。その結果として、それぞれの行動/状態固有のアストロサイト活動分布が明らかになった。

(3) BAE 操作系の確立

BAEにおいてGPCR/Ca²⁺シグナルを刺激し再活性化(DREADD)、およびCa²⁺シグナルを低減させ不活性化(hPMCA2w/b)できる操作系の確立を試みた。操作ツール発現(+DREADD刺激後)に固定脳スライス標本を作成し、アストロサイト活動イメージングを行った。この際、操作ツール発現アストロサイト(BAE)はDREADD-mCherryにより標識されているため、イメージングおよび解析におけるBAEとそうでないアストロサイトの判別が可能であった。増強されたアストロサイト活動シグナルがDREADD-BAEで観察され、活性化系の確立が確認された。一方、hPMCA2w/bによる不活性化は確認できなかった。当該ベクターのITR間が5 kbを超えており、AAVベクターが許容する範囲を超えたため、顕著に発現が低下したことが原因と考えられる。以上により、活性化ツールがBAE選択的にアストロサイト活動シグナルを変化させることが確認された。

(4) BAEの行動機能の検証

最後に、確立した全脳レベルのアストロサイト活動依存的な外来遺伝子発現誘導系を用いた行動/状態特異的な全脳アストロサイト活動分布をもとに、全脳および特定領域のグリアエンGRAM摂動実験を行うことにより、行動時のアストロサイト活動の相関および因果律の解明を目指した。具体的には、恐怖条件づけマウスモデルを用いて、記憶の記銘及び想起

の過程を伴い活動するアストロサイト特異的に薬理的摂動を加えたところ、恐怖想起行動に影響を与えることが明らかになった。

以上の実験結果により、グリアエンングラムの全脳分布同定と回路機能意義の一端が検証された。

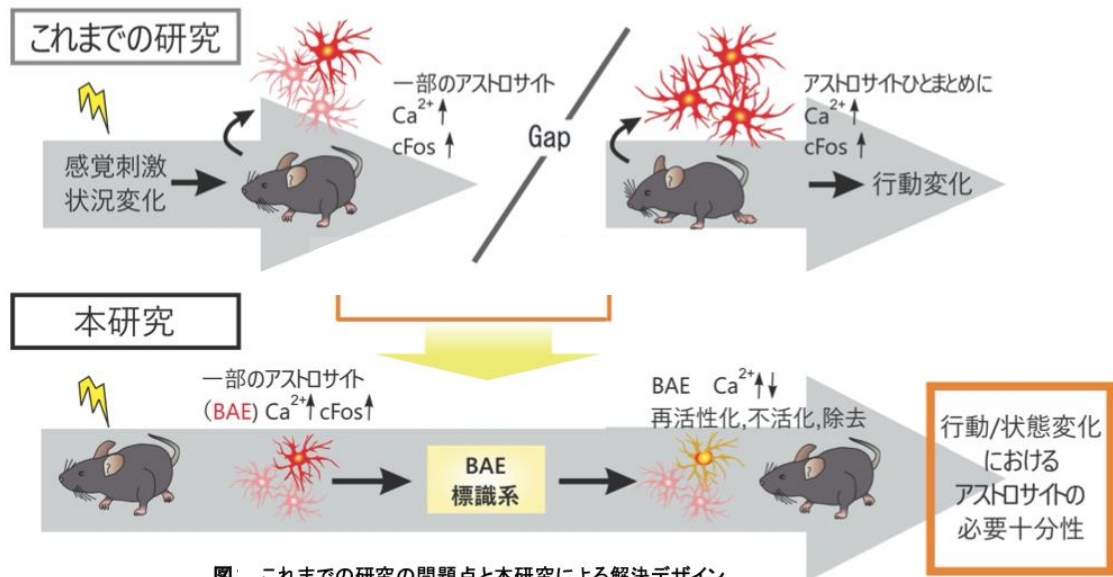


図 これまでの研究の問題点と本研究による解決デザイン

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nagai Jun, Bellafard Arash, Qu Zhe, Yu Xinzhu, Ollivier Matthias, Gangwani Mohitkumar R., Diaz-Castro Blanca, Coppola Giovanni, Schumacher Sarah M., Golshani Peyman, Gradinaru Viviana, Khakh Baljit S.	4. 巻 109(14)
2. 論文標題 Specific and behaviorally consequential astrocyte Gq GPCR signaling attenuation in vivo with iARK	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuron	6. 最初と最後の頁 2256-2274.e9.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neuron.2021.05.023	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9件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Jun Nagai
2. 発表標題 Behavioral physiology with new perturbation and dissection tools for astrocytes.
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Jun Nagai
2. 発表標題 Behavioral physiology with new perturbation and dissection tools for astrocytes.
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Jun Nagai
2. 発表標題 Exploring astrocyte roles in top-down regulation of behavior.
3. 学会等名 The 25th Annual Meeting of the Korean Society for Brain and Neural Sciences（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Jun Nagai
2. 発表標題 Behaviorally-specialized astrocyte ensembles.
3. 学会等名 Neuro2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Jun Nagai
2. 発表標題 アストロサイトGPCRシグナルを標的とした神経変性疾患治療の可能性.
3. 学会等名 第41回日本認知症学会学術集会・第37回日本老年精神医学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Jun Nagai
2. 発表標題 Synaptic reorganization by astrocytes in matured brains
3. 学会等名 44th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Jun Nagai
2. 発表標題 Manipulation tool developments to study behavioral consequences of astrocyte signaling in vivo
3. 学会等名 The 44th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Jun Nagai
2. 発表標題 Improved tools to dissect and manipulate astrocyte signaling: insights into cognition and emotion
3. 学会等名 The 95th Annual Meeting of The Japanese Pharmacological Society
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Jun Nagai
2. 発表標題 Behavioral physiology with new perturbation and dissection tools for astrocytes
3. 学会等名 The 99th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan
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
研究分担者	笠井 淳司 (Kasai Atsushi) (40454649)	大阪大学・大学院薬学研究科・准教授 (14401)	

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
---------	---------