

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06407

研究課題名（和文）アストロサイトによる社会性記憶形成メカニズムの解明

研究課題名（英文）Analysis of the roles of astrocytes for social memory

研究代表者

服部 剛志（HATTORI, TSUYOSHI）

金沢大学・医学系・准教授

研究者番号：50457024

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）：ヒトを含めた社会を形成する動物は、集団内の他個体を記憶（社会性記憶）し、それぞれ相手に対して適切にふるまうことで適応的な社会を形成しています。最近、この社会性記憶を担う神経回路の種類など、その神経メカニズムが明らかになりつつあります。しかしながら、そのような社会性記憶を担う神経回路が脳の発達過程でどのように作られるのかについては、あまりわかっていませんでした。今回、我々は幼少期のグリア細胞（脳における神経細胞以外の細胞）が他人を記憶する脳の形成に重要であることを明らかにしました。さらに、アストロサイトのCD38という分子がその神経回路の形成を調節する仕組みを明らかにしました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自閉スペクトラム症などの脳の発達障害においては、何らかの原因により胎児期から生後の脳の発達に異常が生じた結果、社会性の障害などを呈すると考えられています。この脳の発達において、社会性記憶の神経回路の形成にも異常があるため、他者とのコミュニケーションに障害が起きると予想されます。本研究をさらに発展させることにより、社会性を担う脳の仕組みが明らかになるだけでなく、自閉スペクトラム症などの社会性障害が見られる脳神経疾患の原因究明につながることを期待されます。

研究成果の概要（英文）： Animals that form societies, including humans, form adaptive societies by remembering other individuals in the group (social memory) and behaving appropriately towards each other. Recently, the neural mechanisms which are critical for social memory, such as responsible neural circuits, begin to be clarified. However, still little is known about how the neural circuits responsible for social memory are created during brain development.

Here, we revealed that glial cells (cells other than neurons in the brain) during early childhood are important for the formation of a brain that remembers others. Furthermore, we clarified the mechanism by which a molecule called CD38 in astrocytes regulates the formation of neural circuits.

研究分野：神経解剖学

キーワード：社会性 グリア細胞 神経回路形成 発達障害 アストロサイト シナプス 大脳皮質 海馬

1. 研究開始当初の背景

ヒトを含めた社会性を持つ動物は、集団内の他個体を記憶し、それぞれの相手に適切にふるまうことにより適応的な社会を形成する。近年、遺伝学的手法の発達により社会性記憶に關与する神経回路と神経細胞による記憶のメカニズムについて明らかになりつつある(Okuyama, 2016, Science、文献#1)。一方、グリア細胞であるアストロサイトが社会性記憶神経回路の形成やその制御においてどのような役割を持つかについては、不明な点が多かった。

CD38はニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NAD⁺)からcADPRを合成する酵素であり、cADPRは小胞体からのカルシウムの放出を促進する。申請者は、CD38が発達期の脳において、アストロサイトに最も強く発現し、アストロサイト自身の分化のみならず、細胞非自律的にオリゴデンドロサイトの分化を制御することにより髄鞘の形成を促進することを見出した(Hattori, 2017, GLIA、文献#2)。しかしながら、アストロサイトのCD38の脳発達における重要性や生理的役割については不明な点が多かった。

我々は、アストロサイト特異的CD38遺伝子欠損マウス(CD38 AS-cKO)を作成し、その解析を行ったところ、本マウスにおいて社会性記憶(他個体を記憶する能力)のみが消失していることを見出した。我々は、本マウスの解析を詳細に行うことにより、アストロサイトによる社会性記憶の制御機構を明らかにできるのではないかと考えるに至った。

2. 研究の目的

アストロサイトによる社会性記憶の形成メカニズムを明らかにする為に、以下の研究を行う。

- (1) アストロサイトが制御する社会性記憶神経回路の同定
- (2) アストロサイト由来の回路形成制御分子の同定とその制御機構の解明

3. 研究の方法

- (1) アストロサイトが制御する社会性記憶回路の同定

社会性記憶回路の同定: 社会性記憶に關与する神経回路として海馬背側CA2、海馬腹側CA1、前頭前皮質が知られている(Phillips, 2019、文献#3)。CD38 AS-cKOマウスのGolgi染色及び免疫染色によりを行い、シナプス形成異常の有無を評価する。

- (2) アストロサイトによる神経回路制御機構の解明

CD38により制御される同神経回路形成制御因子の同定とその放出機構を明らかにする。

神経回路形成制御分子の同定: アストロサイトから放出される、社会性記憶回路のシナプス形成にかかわる分子を同定する。CD38 遺伝子欠損及び野生型アストロサイトの培養上清のプロテオーム解析により量が変動している分子を同定する(候補分子: BDNF, Thrombospondin1, SPARCL1 等)。

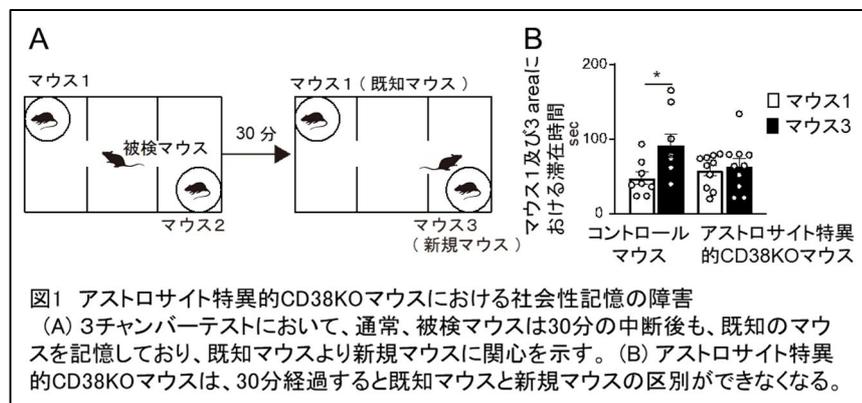
制御分子放出機構の解明(培養系): CD38の下流経路であるcADPR-カルシウム系による上記同定シナプス形成分子放出への關与を明らかにする。cADPR拮抗薬の8Br-cADPR及びカルシウム放出阻害剤(ダントロレン)を添加したアストロサイト培養上清における、シナプス制御分子の放出を評価する。

制御分子放出機構の解明(生体): 実験(2)-①により同定した、シナプス形成制御因子の成体における意義を明らかにする。CD38 AS-cKOマウスの前頭皮質に上記実験により同定したシナプス形成制御因子の組み換えタンパク質を注入し、シナプス形成障害の回復について評価を行う。

4. 研究成果

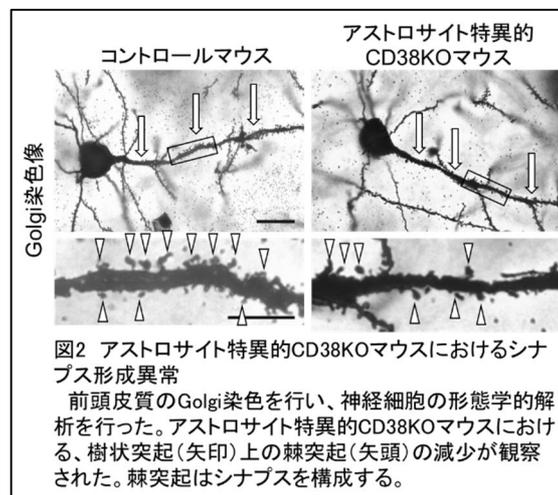
- (1) 発達期アストロサイトによる社会性記憶の制御

我々は、アストロサイトに発現する CD38 の社会性における役割を明らかにする為に、タモキシフェン誘導型 CreER システムを用いて、アストロサイト特異的 CD38KO マウスを作製した。同システムにおいては、タモキシフェンを投与することによりアストロサイトの CD38 遺伝子を時期特異的に欠損させることができる。我々は、生後の発達期である 10 日齢及び若年成体である 42 日齢以降にアストロサイト特異的に CD38 遺伝子が欠損したマウスを作製した。これらのマウスを用いて、社会性行動を評価する 3 チャンバーテストを行った。本行動テストでは、マウスの社会性行動のうち社交性、社会的認知能力、社会性記憶を解析することができる。42 日齢以降の CD38 の欠損ではいずれの社会性行動も正常であったが、10 日齢以降に欠損させた場合、他の個体を記憶する社会性記憶という行動のみが障害されるという興味深い結果を得た(図 1)。我々は、さらに社会性以外の行動への影響も検討を行ったが、活動性、不安、認知機能、子育て、いずれの行動においても異常は認められなかった。これらの結果より、発達期のアストロサイトに発現する CD38 が、社会性記憶の形成に重要であることを見出した (Hattori, 2023, EMBO J、文献#4)。



(2) アストロサイト CD38 による興奮性シナプス形成の制御

生後 10 日から 20 日においては、神経細胞同士が盛んにシナプス形成を行い、神経回路形成が行われる時期である。我々は、アストロサイトにおける CD38 遺伝子の欠損が、社会性記憶に関連する神経回路形成に影響を与えたと考え、関連脳領域である内側前頭皮質における神経細胞の解析を行った。Golgi 染色による細胞形態の解析の結果、アストロサイト特異的 CD38KO マウスの神経細胞は、樹状突起の長さや複雑性に变化見られなかったが、シナプス構成成分である棘突起の数の減少とその形態の異常が認められた(図 2)。さらに、免疫組織化学的解析により内側前頭前野のシナプス数を評価したところ、同マウスにおける有意なシナプス数の減少が認められた。同様のシナプス数の減少は、社会性記憶関連領域である海馬の CA1、CA2 においても観察された。これらの結果より、アストロサイト CD38 の欠損による、社会性記憶関連領域における神経回路形成の障害が明らかとなった。



(3) アストロサイト CD38 によるシナプス形成促進因子 SPARCL1 の分泌制御

アストロサイトは、BDNF や Thrombospondin-1 など様々な分子を細胞外に分泌し、神経細胞のシナプス形成やシナプス伝達を制御する。我々は、CD38 がどのような分子の

分泌に関わっているのかを明らかにする為に、野生型及び CD38KO マウス由来アストロサイトの培養上清を回収し、プロテオーム解析を行った。CD38KO マウス由来アストロサイトの培養上清において量が変動していた 30 分子のうち、細胞外タンパク質かつシナプス形成に関与する分子として SPARCL1 (別名: Hevin) を同定した。SPARCL1 は、シナプス構成タンパク質である neuroligin と neurexin の結合を促進することにより、シナプス構造の安定性を増加させ、シナプス形成を促進する機能を持つ。我々は、ウエスタンブロットにより、実際に、CD38KO マウス由来培養アストロサイトから分泌される SPARCL1 の量は減少し、同時に、細胞内の発現量も減少していることを見出した。さらに、脳内における SPARCL1 の発現は、CD38 と同様に脳の発達期のアストロサイトに強く発現していた。これらの結果より、CD38 はアストロサイトにおいて SPARCL1 の細胞外への分泌を促進していることが明らかとなった。シナプス形成における SPARCL1 分泌制御の重要性を検討するために、生後 15 日のアストロサイト特異的 CD38KO マウスの内側前頭前野に、SPARCL1 の組み換えタンパク質の投与を行い、生後 20 日におけるシナプス数の評価を行った。その結果、70%のシナプス形成の回復が見られた。よって、アストロサイトの CD38 が SPARCL1 を介して、シナプス形成を促進している事が明らかとなった。

(4) アストロサイト CD38 による SPARCL1 の分泌制御機構

CD38 は、NAD⁺ から cADPR を合成し、cADPR はリアノジン受容体 (R_{YR}) に結合し、小胞体から細胞質へのカルシウムイオンの放出を促進する。我々は、この CD38/cADPR/カルシウム系のシグナル伝達が SPARCL1 の放出に関与する可能性を検証するために、培養アストロサイトに対して cADPR 拮抗薬である 8Br-cADPR、R_{YR} 阻害剤である Dantrolen を用いて、SPARCL1 の分泌量を検討した。その結果、同シグナル伝達経路が SPARCL1 のアストロサイトからの分泌を制御する結果を得た。一方、これらの化合物は SPARCL1 タンパク質の細胞内発現量には影響を与えなかった。最後に、野生型及び CD38KO マウスから単離したアストロサイトを用い、RNA シークエンスを行ったところ、CD38KO マウスにおいて、野生型と比較して 289 遺伝子の発現減少、471 遺伝子の発現上昇が認められた。減少していた遺伝子のオントロロジーエンリッチメント解析を行った結果、CD38KO アストロサイトにおいては、カルシウムシグナル経路に関連する遺伝子の発現が減少していることが明らかとなった。これらの結果より、CD38 はアストロサイトにおいて cADPR/R_{YR}/Ca²⁺ を介して SPARCL1 の分泌を制御していることが明らかとなった。

引用文献

1. Okuyama T, Kitamura T, Roy DS, Itohara S, Tonegawa S. Ventral CA1 neurons store social memory. *Science* 2016 Sep 30;353(6307):1536-1541
2. Hattori T, Kaji M, Ishii H, Jureepon R, Takarada-Iemata M, Minh Ta H, Manh Le T, Konno A, Hirai H, Shiraishi Y, Ozaki N, Yamamoto Y, Okamoto H, Yokoyama S, Higashida H, Kitao Y, Hori O. CD38 positively regulates postnatal development of astrocytes cell-autonomously and oligodendrocytes non-cell-autonomously. *Glia* 2017 Jun;65(6):974-989.
3. Phillips ML, Robinson HA, Pozzo-Miller L. Ventral hippocampal projections to the medial prefrontal cortex regulate social memory. *Elife* 2019 May 21;8:e4418
4. Hattori T, Cherepanov SM, Sakaga R, Roboon J, Nguyen DT, Ishii H, Takarada-Iemata M, Nishiuchi T, Kannon T, Hosomichi K, Tajima A, Yamamoto Y, Okamoto H, Sugawara A, Higashida H, Hori O. Postnatal expression of CD38 in astrocytes regulates synapse formation and adult social memory. *EMBO J.* 2023 Aug

1;42(15):e111247.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 4件）

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 服部 剛志 | 4. 巻 132 |
| 2. 論文標題 生後の脳発達と社会性記憶形成におけるアストロサイトの役割の解明 | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 十全医学会雑誌 | 6. 最初と最後の頁 96-101 |
| 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 Hattori Tsuyoshi, Cherepanov Stanislav M, Sakaga Ryo, Roboon Jureepon, Nguyen Dinh Thi, Ishii Hiroshi, Takarada Iemata Mika, Nishiuchi Takumi, Kannon Takayuki, Hosomichi Kazuyoshi, Tajima Atsushi, Yamamoto Yasuhiko, Okamoto Hiroshi, Sugawara Akira, Higashida Haruhiro, Hori Osamu | 4. 巻 42 |
| 2. 論文標題 Postnatal expression of CD38 in astrocytes regulates synapse formation and adult social memory | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 The EMBO Journal | 6. 最初と最後の頁 1-19 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.15252/embj.2022111247 | 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 - |
| 1. 著者名 Fan Qiyan, Takarada Iemata Mika, Okitani Nahoko, Tamatani Takashi, Ishii Hiroshi, Hattori Tsuyoshi, Kiryu Seo Sumiko, Kiyama Hiroshi, Hori Osamu | 4. 巻 71 |
| 2. 論文標題 Brain injury triggers cell type specific and time dependent endoplasmic reticulum stress responses | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Glia | 6. 最初と最後の頁 667 ~ 681 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/glia.24303 | 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 - |
| 1. 著者名 Tanaka Takashi, Nguyen Dinh Thi, Kwankaew Nichakarn, Sumizono Megumi, Shinoda Reika, Ishii Hiroshi, Takarada-Iemata Mika, Hattori Tsuyoshi, Oyadomari Seiichi, Kato Nobuo, Mori Kazutoshi, Hori Osamu | 4. 巻 48 |
| 2. 論文標題 ATF6 Deficiency Elicits Anxiety-like Behavior and Hyperactivity Under Stress Conditions | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Neurochemical Research | 6. 最初と最後の頁 2175 ~ 2186 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11064-023-03900-4 | 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 - |

| | |
|---|--------------------|
| 1. 著者名 Roboon Jureepon, Hattori Tsuyoshi, Nguyen Dinh Thi, Ishii Hiroshi, Takarada-Iemata Mika, Kannon Takayuki, Hosomichi Kazuyoshi, Maejima Takashi, Saito Kengo, Shinmyo Yohei, Mieda Michihiro, Tajima Atsushi, Kawasaki Hiroshi, Hori Osamu | 4. 巻 16 |
| 2. 論文標題 Isolation of ferret astrocytes reveals their morphological, transcriptional, and functional differences from mouse astrocytes | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Frontiers in Cellular Neuroscience | 6. 最初と最後の頁 1-15 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fncel.2022.877131 | 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 - |

| | |
|---|--------------------|
| 1. 著者名 Shinmyo Yohei, Saito Kengo, Hamabe-Horiike Toshihide, Kameya Narufumi, Ando Akitaka, Kawasaki Kanji, Duong Tung Anh Dinh, Sakashita Masataka, Roboon Jureepon, Hattori Tsuyoshi, Kannon Takayuki, Hosomichi Kazuyoshi, Slezak Michal, Holt Matthew G., Tajima Atsushi, Hori Osamu, Kawasaki Hiroshi | 4. 巻 8 |
| 2. 論文標題 Localized astrogenesis regulates gyrification of the cerebral cortex | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Science Advances | 6. 最初と最後の頁 1-15 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abi5209 | 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 Nguyen Dinh Thi, Le Thuong Manh, Hattori Tsuyoshi, Takarada-Iemata Mika, Ishii Hiroshi, Roboon Jureepon, Tamatani Takashi, Kannon Takayuki, Hosomichi Kazuyoshi, Tajima Atsushi, Taniuchi Shusuke, Miyake Masato, Oyadomari Seiichi, Tanaka Takashi, Kato Nobuo, Saito Shunsuke, Mori Kazutoshi, Hori Osamu | 4. 巻 11 |
| 2. 論文標題 The ATF6 -calreticulin axis promotes neuronal survival under endoplasmic reticulum stress and excitotoxicity | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Reports | 6. 最初と最後の頁 13086 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-92529-w | 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 - |

| | |
|---|------------------------|
| 1. 著者名 Shinmyo Yohei, Saito Kengo, Hamabe-Horiike Toshihide, Kameya Narufumi, Ando Akitaka, Kawasaki Kanji, Duong Tung Anh Dinh, Sakashita Masataka, Roboon Jureepon, Hattori Tsuyoshi, Kannon Takayuki, Hosomichi Kazuyoshi, Slezak Michal, Holt Matthew G., Tajima Atsushi, Hori Osamu, Kawasaki Hiroshi | 4. 巻 8 |
| 2. 論文標題 Localized astrogenesis regulates gyrification of the cerebral cortex | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Science Advances | 6. 最初と最後の頁 eabi5209 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abi5209 | 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 服部 剛志、堀 修 | 4. 巻 12 |
| 2. 論文標題 自閉症病態におけるグリア細胞発達異常の解明 | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 子どものこころと脳の発達 | 6. 最初と最後の頁 34～40 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.34572/jcbd.12.1_34 | 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8件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 Tsuyoshi Hattori, Hiroshi Ishii, Mika Takarada-Iemata, Hiroshi Okamoto, Yasuhiko Yamamoto, Haruhiro Higashida, Osamu Hori |
| 2. 発表標題 A role of CD38 for neuronal cell death and NAD+ level |
| 3. 学会等名 第64回日本神経病理学会総会学術研究会 / 第66回日本神経化学会大会 合同大会（国際学会） |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Tsuyoshi Hattori, Hiroshi Ishii, Mika Takarada-Iemata, Hiroshi Okamoto, Yasuhiko Yamamoto, Haruhiro Higashida, Osamu Hori |
| 2. 発表標題 A role of CD38 for neuronal cell death and NAD+ level |
| 3. 学会等名 第129回 日本解剖学会総会 |
| 4. 発表年 2024年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Tsuyoshi Hattori, Stanislav M. Cherepanov, Roboon Jureepon, Hiroshi Ishii, Mika Takarada-Iemata, Nguyen Thi Dinh, Hiroshi Okamoto, Yasuhiko Yamamoto, Haruhiro Higashida, Osamu Hori |
| 2. 発表標題 The postnatal astrocytic CD38 regulates synapse formation and adult social memory |
| 3. 学会等名 第5回 子どものこころサミット |
| 4. 発表年 2024年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 TSUYOSHI HATTORI |
| 2. 発表標題 The role of astrocytic CD38 for brain development and social behavior |
| 3. 学会等名 26th Thai Neuroscience Society International Conference (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 服部 剛志、Jureepon Roboon、堀 修 |
| 2. 発表標題 高等哺乳動物フェレットアストロサイトの細胞形態、遺伝子発現、機能解析 |
| 3. 学会等名 第128回日本解剖学会総会 全国学術集会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 服部 剛志 |
| 2. 発表標題 Astroglial CD38 regulates social memory and synapse formation in the medial prefrontal cortex |
| 3. 学会等名 Neuro 2022 (国際学会) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 服部 剛志,Roboon Jureepon, 堀 修 |
| 2. 発表標題 Inhibition of CD38 and supplementation of NR ameliorate LPS-induced microglial and astrocytic neuroinflammation by increasing NAD+ |
| 3. 学会等名 第64回日本神経化学会大会 (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|-------------------------------------|
| 1. 発表者名 服部 剛志 |
| 2. 発表標題 アストロサイトCD38による社会性記憶の制御機構 |
| 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 2021年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

| |
|---|
| 金沢大学 神経解剖学 https://med03.w3.kanazawa-u.ac.jp/index.html Astroglial CD38 regulates social memory https://doi.org/10.1101/2021.12.23.474051 |
|---|

| | | |
|---------------------------|-----------------------|----|
| 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 |
|---------|---------|