

記憶を関連づける神経細胞集団の仕組みを解明

ポイント

記憶同士が関連づけられる際に、それぞれの記憶を司る記憶痕跡細胞集団が重複するが、その役割は不明だった。重複した記憶痕跡細胞集団は記憶の関連づけ(連合)のみに関与し、それぞれの記憶を思い出すためには必要ではないと明らかになった。個々の記憶に影響を与えなく、記憶の不要な結びつきのみを切り離すことも可能になり、精神疾患の新たな治療法の創出につながると期待される。

JST 戦略的創造研究推進事業の一環として、富山大学 大学院医学薬学専攻(医学) 生化学講座の 井ノ口 馨教授らは、マウスで、個別に形成された記憶同士が繰り返し同時に思い出されるような場合に、脳内のある特定の神経細胞集団がそれぞれの記憶同士を結びつけていることを初めて明らかにしました。私たちは脳に書かれているさまざまな記憶情報に関連づけることで、知識や概念を形成していきます。それぞれの記憶は特定の神経細胞集団(記憶痕跡細胞集団)によって脳内に書き入れられており、記憶同士が関連づけられるときには、それぞれの記憶を司る細胞集団同士が重複すると報告されていますが、重複した細胞集団の役割は不明でした。本研究グループは、マウスを用いて**味覚嫌悪学習(CTA)**^{※1}と**音恐怖条件付け(AFC)**^{※2}という2つの連合記憶を関連づける高次連合実験系を確立しました。CTAはサッカリン水溶液と塩化リチウムによる内臓感覚、AFCはブザー音と電気ショック(それに対するすくみ反応)がそれぞれ関連付けられる学習です。それぞれの**条件刺激**^{※3}(CTAではサッカリン水溶液、AFCではブザー音)を連続して同時に思い出させると、本来別々にされたCTA記憶とAFC記憶が関連づけられました。すなわち、サッカリン水溶液を飲むと、ブザー音を聞いた時のようにフリージング(すくみ)反応を示すようになりました。その時、CTA記憶とAFC記憶を司る細胞集団では、各記憶に対応した記憶痕跡細胞集団の重なりが増えました。逆に、記憶を思い出した時に、重複した記憶痕跡細胞集団の活動のみを実験的に抑制すると、2つの連合記憶同士が連合する割合が低減しました。一方で、CTAおよびAFCそれぞれの記憶、すなわちオリジナルの記憶は正常のままでした。これにより、重複した記憶痕跡細胞集団は記憶の連合のみに関与し、それぞれの記憶の想起には必要ではないことが明らかになりました。記憶が関連づける仕組みに関する今回の研究は、知識や概念の形成といった脳の高次脳機能の解明につながる成果です。また、関連性の強い記憶同士の不必要な結びつきは、PTSD(心的外傷後ストレス障害)を始めとする精神疾患に密接に関わっていることから、今回の成果はこれらの疾患の治療法の創出につながるものと期待されます。

【注1】味覚嫌悪学習(Conditioned Taste Aversion task, CTA) 給水装置にマウスに対して、サッカリン水溶液(甘い水)を摂取させた後、内臓感覚を引き起こす塩化リチウム溶液を腹腔内に投与することで、学習後において本来嗜好性のあるサッカリン水溶液に対して回避反応(摂取の低下、拒否)を示すようになる。味覚情報を利用した記憶学習課題のひとつ。本研究では、記憶形成に関する両半球の両側から神経細胞集団を採取し、味覚嫌悪反応を評価している。
【注2】音恐怖条件付け(Auditory Fear Conditioning, AFC) マウスを元気に電極が取り付けられた小型チャンパーに入れ、ブザー音と同時にブザー音で構成された電気ショックを与える条件付けを行う。その後、条件付けたマウスを電気ショックを与えないチャンパーとは異なるチャンパーに入れ、電気ショックを与えない時にブザー音を鳴らす。その際に、マウスが示すフリージング反応の時間を計測することで学習を評価する。動物が危険を予測する際の確率情報を利用した一種の防衛反応。
【注3】条件刺激、無条件刺激条件刺激: 動物に対してそれ自体では恐怖反応などを誘起しない音、光、場所(文脈)などの刺激。無条件刺激: 電気ショックなどの恐怖反応を引き起こす刺激。これらを対提示することで両者の関連性を学習し、条件刺激のみで恐怖反応を示すようになる。
※本研究のCTAにおいては、条件刺激としてサッカリン水溶液、無条件刺激として塩化リチウムの腹腔内投与、一方AFCでは、条件刺激としてブザー音、無条件刺激として足の電気ショックを行った。

研究の背景と経緯

知識や概念の形成は、異なる経験を通して獲得した記憶を既存の記憶に付け加えていく作業であると考えられます。すなわち、脳内では個々の記憶同士が相互作用し合うことにより記憶間で新たな連合が生まれ、既存の記憶が更新されています。近年、個々の記憶は経験時に活動した特定の記憶痕跡細胞集団として脳内に書き入れられていること。また、それら記憶同士が連合する際には、それぞれの記憶に対応する記憶痕跡細胞集団の間で、重複して活動する細胞の割合が増加することが報告されています。このように、これまで記憶同士の連合が成立する際には、個々の記憶痕跡細胞において重なりが増えることは知られていましたが、その重複細胞集団自体の機能的な役割はほとんど明らかになっていませんでした。

研究の内容

本研究ではマウスを用いて、異なる記憶同士の連合学習系として味覚嫌悪学習(CTA)と音恐怖条件付け(AFC)を組み合わせた新たな行動実験系を確立し、それぞれの記憶に関連づけられる仕組みを調べました。

異なる2種類の記憶課題として、いずれも扁桃体を必要とする学習であるCTAとAFCを用いました。CTAは条件刺激としてサッカリン水溶液(甘い水)、**無条件刺激**として塩化リチウム投与を用いました。塩化リチウム投与は内臓感覚を引き起こすため、重なりは元々好まなかったサッカリン水溶液を忌避するように促します。一方でAFCは、条件刺激としてブザー音、無条件刺激として足への電気ショックを用いました。学習後、マウスはブザー音を光刺激と恐怖反応であるフリージング(すくみ)反応を示すようになります。それぞれの記憶を個別に形成させた後、それぞれの条件刺激(サッカリン水溶液とブザー音)を連続してマウスに与えて両記憶を同時に想起させると、その後マウスはサッカリン水溶液を飲むフリージング反応を示すようになりました(図1)。この結果は、独立に形成したCTA記憶とAFC記憶が連続した同時想起により相互作用したことを示しています。

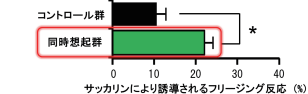


図1

連続した同時想起(記憶連合誘導)により生じた記憶間相互作用

上段: 連続した同時想起時のCTA記憶テスト時におけるサッカリン水溶液の初期摂取後、4分間のフリージング反応。
下段: 連続した同時想起時に生じた記憶連合の脳内モデル。ベン図(円)はCTA記憶の想起時とAFC記憶の想起時に活動した記憶痕跡細胞集団を示す。サッカリン水溶液の提示によりCTA記憶痕跡細胞集団が活動する。その時同時に重複した記憶痕跡細胞集団が活動し、AFC記憶痕跡細胞集団が活動し、フリージング反応を示す。

また、その際にCTA記憶とAFC記憶を司る扁桃体領域において、各記憶に対応して活動した記憶痕跡細胞集団を**catFISH法**^{※4}により特定したところ、連続した同時想起を行った群で両記憶を担う細胞集団の重複率の有意な増加が認められました(図2)。この結果は、重複した記憶痕跡細胞集団が両記憶の関連づけを担っていることを示唆しています。

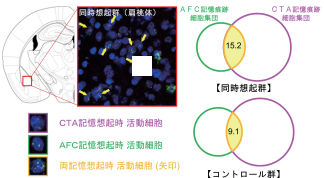


図2

CTA-AFC記憶間連合誘導後のcatFISH解析

連続した同時想起におけるCTA、AFC記憶想起に伴い活動した扁桃体領域での記憶痕跡細胞集団、CTA記憶想起時に活動した細胞とAFC記憶想起時に活動した細胞は重複している。どちらの記憶の想起にも活動した細胞はマントラと線状の両方(線)を形成している。記憶連合の形成により、扁桃体領域において、コントロール群に比べて両記憶に対応する神経細胞集団の重複率の有意な増加が認められた(矢印)。ベン図の黄色い部分参照。

【注4】catFISH法(cat compartment analysis of temporal activity fluorescence in situ hybridization法)の改良。蛍光を利用LmRNAの存在を調べるFISH法を利用して、神経細胞が活動したタイミングを特定する技術。Arc mRNAは神経活動5分後に、Homer1a mRNAは神経活動30分後に核内に発現が確認される。この時間差を利用して、30分前後で脳のベンチを行った直後の脳断片を調べることで、神経細胞が活動した時間を調べることにできる。
【注5】Arch1(Archivier-Archivhodopsin-T)プロテインポンプから生成光感受性シグナルの一種。神経細胞にArch7を表現させると、黄緑色光に反応してプロテインポンプが作動し、水素イオンを細胞外へ排出する。これにより、細胞膜電位は過分極を示すので黄緑色光照射時にArch7を表現した細胞膜電位は抑制することができる。
【注6】光遺伝学(オプティネティクス)特定の波長の光を当てると活動する分子遺伝子を導入することで、置った細胞の活動性や機能を光で制御する方法。光照射によって人為的に置いた細胞の神経活動を誘導、抑制できる。

CTA記憶とAFC記憶の連合が成立した結果生じるサッカリン水溶液の摂取によるフリージング反応と、それぞれの記憶にそれぞれに対応して活動する記憶痕跡細胞集団との関係は明らかにするため、重複した細胞集団のみを**Arch7**^{※5}で標識し、その活動を**光遺伝学**^{※6}の操作により抑制した。連合記憶の想起時に光照射で重複細胞集団の活動を一時的に抑制したところ、連合の結果生じるサッカリン水溶液によるフリージング反応が低減した(図3)。一方で、重複細胞集団の活動抑制は元々のCTA記憶、AFC記憶の想起には影響を与えませんでした。同士の重なりなく特定の記憶痕跡細胞集団の存在とその機能的な役割が初めて明らかになりました。

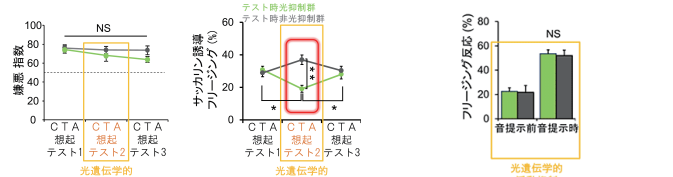


図3

重複した記憶痕跡細胞集団の光遺伝学的な活動抑制

上段: 本実験の結果を示す。連続した同時想起時に光照射で重複細胞集団の活動を抑制したところ、連合の結果生じるサッカリン水溶液によるフリージング反応が一時的に低減した(中央図)。一方で、元々のCTA記憶、AFC記憶の想起には影響を与えませんでした。重複細胞集団の活動抑制による変化は認められなかった(左側図および右側図)。右側図: CTA記憶想起時の学習直後(AFC記憶が記憶されていることを示す)群で、連続した同時想起時に光照射で重複細胞集団の活動を抑制したところ、CTA記憶の想起時に活動した細胞の割合が減少した(矢印)。左側図: AFC記憶想起時の学習直後(CTA記憶が記憶されていることを示す)群で、連続した同時想起時に光照射で重複細胞集団の活動を抑制したところ、AFC記憶の想起時に活動した細胞の割合が減少した(矢印)。CTA記憶とAFC記憶の両方とも記憶されている細胞の割合が減少した(中央図)。

以上の結果より、CTA記憶とAFC記憶の両記憶間の高次連合は、連続した同時想起により扁桃体で生じる記憶痕跡細胞集団の重なりによって引き起こされていることが明らかになりました。加えて重要な点として、記憶の連合のみに関与し、元々の記憶の想起には必要でない記憶痕跡細胞集団が存在することが明らかになりました。本研究によって、記憶同士を特定する記憶痕跡細胞集団の存在とその機能的な役割が初めて明らかになりました。

今後の展開

ヒトの知識や概念の形成過程は、過去に経験した既存の記憶に対して、日々新たに経験する様々な情報(感覚・情動・記憶など)を適切に結びつけることにより体系化される高次脳機能の1つです。一方で、PTSDを始めとする精神疾患や記憶障害などの記憶障害においては、このような正常な関連づけが行われず、関連性の弱い記憶同士が結びついてしまうことで事態を悪化させることがあります。このように医学的な観点からも本研究成果は新たな知見を与えてくれます。例えば、フラッシュバックのように日常の出来事や記憶とトラウマ記憶の結びつきが問題となる場合、重複した記憶痕跡細胞集団の神経活動を抑制することで、それぞれの記憶にその影響を与えず両者の記憶を切り離すことも可能と思われ、将来的にはPTSD治療への道も視野に入ります。

本成果は、井ノ口 馨・研究開発・研究課によって得られました。戦略的創造研究推進事業 チーム型研究(CREST)研究課題「生命現象の理解と制御のための基盤技術の創出」(研究班長: 日本 神奈川大学大学院大学院大学教授) 研究班員「細胞集団の活動態勢知解と回路モデルに基づいた記憶統合プロセスの解明」研究代表者 井ノ口 馨(富山大学大学院医学薬学専攻(医学)教授) 研究期間: 平成25年10月～平成31年3月 JSTの領域で「生命のしくみ・物質」は、これらの生命現象を無細胞系、細胞、細胞集団のレベルで観察・実験・計測し、この生命体の動的システムを時空論的に統合的に理解することを目指します。同時に、これらの研究を基盤として、生命現象を自在に操る技術の創出を追求します。上記研究課題では、細胞のダイナミクス側面に注目し、ニューロン集団の活動動態に焦点を当てた解析と数理モデルの構築を通して、神経回路レベルの記憶のメカニズム解明を目指します。