

論文の内容の要旨

論文題目

社会的敗北ストレス経験の記憶固定化における 腹側海馬の役割

氏名 中山 亮太

【背景・目的】

動物は嫌悪的な出来事を経験すると、その記憶に基づいて忌避行動を起こすようになる。こうした嫌悪的な経験に曝される時間は、覚醒中の数秒～数分の短時間であるにもかかわらず、脳は適切に記憶を形成し、それを長期的に保持することができる。これを実現する脳メカニズムとして、嫌悪的な経験後の安静時・睡眠時に生じる「記憶の固定化」が重要であると考えられている。記憶の固定化の神経活動の実態は、数時間にわたり反復して生じる神経細胞の再活性化である。同じ神経活動を繰り返し再生することで、記憶形成に必要な神経回路の可塑的変化が起こると考えられる。

記憶の固定化には、海馬が重要な役割を果たすことが知られているが、そのほとんどは背側海馬で明らかとされてきた。しかし、海馬は均質な構造・機能を有しておらず、背側海馬と腹側海馬は異なる特性を示すことが近年知られてきている。例えば背側海馬は時空間的な記憶・学習に重要である一方で、腹側海馬は情動行動や嫌悪性記憶に関与することが示唆されている。しかし、腹側海馬は脳深部に存在するため、背側海馬と比較して神経活動を記録することが困難であり、これまで記憶の固定化における役割はほとんど調べられてこなかった。そこで本研究では、社会的ストレス記憶の固定化に腹側海馬が関与するか、関与するとすればどのような神経活動が記憶の基盤を担うかを明らかにすることを目的とした。

【結果と考察】

1. 社会的敗北ストレスを用いた嫌悪記憶学習課題の確立

社会的な情動記憶を形成する記憶学習課題として、社会的敗北ストレスを採用した。社会的敗北ストレスは、被験対象となる雄性 C57BL/6J マウスを、雄性 ICR マウスの飼育ケージに曝露し、10 分間攻撃を受けさせることによって達成される。これによって形成された記憶を評価するため、

翌日に社会的相互作用試験を行った。社会的相互作用試験では被験マウスに空のメッシュケージの置かれたオープンフィールドを 150 秒間探索させたのち、前日攻撃してきた ICR マウスをメッシュケージ内に入れてオープンフィールドを再度 150 秒間探索させた。メッシュケージ周辺に滞在する時間を測定し、その比を社会的相互作用量の指標として定量することで、社会的ストレス記憶を評価した。コントロール群と比較して、ストレス群ではメッシュケージからの忌避行動がみられた。これを定量したところ、コントロール群と比較してストレス群で有意な社会的相互作用量の低下が観察された。このことから、社会的敗北ストレス経験によって嫌悪記憶が形成されることが示唆された。

2. 社会的ストレスによる嫌悪記憶の固定化における腹側海馬の関与の検証

こうした経験依存的な行動変化を誘導するためには、経験が長期記憶として固定化されることが必要と考えられる。この過程に腹側海馬が関与するか調べるため、ストレス負荷直後に両側の腹側海馬に GABA_A 受容体のアゴニストであるムシモールを局所投与した。生理食塩水群と比較して、ムシモール群で社会的相互作用量が有意に改善した。一方で、背側海馬にムシモールを投与しても同様の効果は得られなかった。この結果から、ストレス経験後に腹側海馬で社会的ストレス記憶の固定化が行われていることが示唆された。薬物投与による抑制効果はおよそ 6 時間続くことが過去の知見から分かっている。そこで、より詳細なタイムコースを調べるため、神経活動制御の時間解像度の高い光遺伝学的実験を行った。両側の腹側海馬にウイルスベクターを用いて抑制性光感受性タンパク Arch3.0 を発現させた。ストレス経験直後の 2 時間だけ光照射によって腹側海馬の神経活動を抑制したところ、社会的相互作用量が有意に改善した。これはストレス経験の 4 時間後からの抑制では見られなかった。したがって、社会的ストレス記憶の固定化には、ストレス経験直後 2 時間の腹側海馬の神経活動が必要であることが示唆された。

3. 社会的敗北ストレス経験に応答する腹側海馬神経細胞

詳細な神経活動を調べるため、多細胞同時記録法を用いて個々の腹側海馬神経細胞の発火活動を記録・解析した。攻撃を受けている際の神経活動を記録することができないため、攻撃の直後に仕切りを入れた間接的なストレスを受けるセッションを設けた。背側海馬の活動を調べた過去の知見から、ある出来事の記憶を担う神経細胞は、その出来事を経験中に神経活動を増加させることが知られている。そこで、発火率を指標とし、腹側海馬にストレス経験をエンコードする神経細胞が存在するか調べた。レスト（プレ）と、攻撃直後の間接ストレス中の発火率を比較した。間接ストレス中に発火率を上昇させ、記憶を担うと考えられる神経細胞が観察された一方で、発火率を低下させる細胞も観察された。記録した全 22 細胞について調べた結果、約半数の腹側神経細胞が間接ストレス中に発火率を上昇させていることを見出した。この結果から、腹側海馬に社会的ストレスに応答して活動する神経細胞が存在することが示唆された。

4. 社会的ストレスによる嫌悪記憶の固定化に寄与する腹側海馬リップルの活動動態

記憶の固定化を反映する神経活動として、海馬リップルに着目した。リップルは多くの海馬神経細胞の同期発火を伴って生じる脳波であり、背側海馬ではリップルが学習に伴って睡眠中に高頻度で発生し、記憶の固定化に関与することが明らかとされてきた。しかし腹側海馬リップルの機能はほとんど分かっていない。2. でストレス経験直後 2 時間の腹側海馬の活動が記憶の固定化

に重要であることが示唆されたことから、この時の腹側海馬リップルの活動動態を記録・解析した。レスト（プレ）と比較して、レスト（ポスト）でリップル発生頻度が有意に上昇していた。特に、レスト（ポスト）の覚醒中にのみ有意なリップル発生頻度の上昇がみられた。このことから、腹側海馬においては、ストレス経験後の覚醒中にリップル発生頻度が上昇し、記憶の固定化に寄与していることが示唆された。

5.記憶の固定化に寄与するリップル中の腹側海馬神経細胞の活動

空間学習における背側海馬の活動を調べた過去の知見から、背側海馬において、直前の経験の情報を持つ細胞は、その後の睡眠中に生じるリップル中に活動しやすくなることが知られている。そこで、3.で見出した、ストレス経験に反応する腹側海馬神経細胞が、経験後のリップル発生中に活動しているかを検証した。その結果、間接ストレス中に発火率が上昇する神経細胞ほど、レスト（ポスト）の覚醒中に生じるリップル中により発火しやすくなっていることを発見した。このことから、腹側海馬において、個々の神経細胞レベルで社会的ストレスによる嫌悪記憶の固定化が促進されていることが示唆された。

【総括】

本研究では、社会的敗北ストレスを用いることによって、社会的ストレスの記憶固定化における腹側海馬の役割を明らかにし、さらにその電気生理学的な活動動態を見出した。腹側海馬は、扁桃体や前頭前皮質といった情動に関わる脳領域と強い投射関係を有していることが知られている。これらのことから、記憶の固定化時に腹側海馬とこれら情動に関わる脳領域間の神経結合が強まっている可能性がある。本研究は、腹側海馬が社会性情動記憶の固定化に必要であることを示した点、そしてその基盤と考えられる神経活動を初めて記述した点で重要であり、記憶がその後の行動変化を引き起こすメカニズムを明らかにしていく足がかりになることが期待される。

《業績リスト》

1. Nakayama, R., Sasaki, T., Tanaka, K. F., Ikegaya, Y. Subcellular calcium dynamics during juvenile development in mouse hippocampal astrocytes. *Eur. J. Neurosci.*, 43:923-932, 2016.
2. *Abe, R., *Okada, S., *Nakayama, R., Ikegaya, Y, Sasaki, T. Social defeat stress causes selective attenuation of neuronal activity in the ventromedial prefrontal cortex. *Sci. Rep.*, 9:9447, 2019. recommended in F1000 prime. (*: equal contribution)
3. Nakayama, R., Ikegaya, Y., Sasaki, T. Cortical-wide functional correlations are associated with stress-induced cardiac dysfunctions in individual rats. *Sci. Rep.*, 9:10581, 2019.