

## PTSD の汎化における睡眠期依存的な新生ニューロンの機能

坂口昌徳

筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構

### 【研究の背景】

ほ乳類の成体脳では、ニューロンの新生は基本的には起こらない。しかし、ごく稀な例外として海馬歯状回では、神経幹細胞からニューロン新生が生産続く。これらの新生ニューロンは、その成熟に伴い、歯状回を取り巻く神経回路とシナプスにより結合を作りながら、ほ乳類特有の記憶回路を作ると考えられている。これは既存の記憶メカニズムの多くにおいて細胞の増減を考慮に入れていないことから明らかなように、記憶回路に新規のメカニズムが関わっている可能性が有る。特に歯状回は似て非なる記憶を見分けるという記憶の精度に重要な部位として認識されており、この機能に新生ニューロンが関わっていることが知られている。我々も新生ニューロンを選択的に障害する実験系を構築し、似て非なる場所を区別することに必要な情報が新生ニューロンに固定化されることを示した<sup>1)</sup>。また恐怖記憶学習課題を用いることで、学習直後に学習した際に恐怖と結びついた状況と似て非なる場所刺激を与えることで、その場所にも恐怖記憶が結び付けられる(恐怖記憶が汎化する)ことを発見した<sup>2)</sup>。

### 【目 的】

今回、この学習直後に起こる恐怖刺激の汎化に、新生ニューロンが関与しているかを解析することとした。このために光遺伝学的手法を用い、学習後に汎化の刺激を与えたマウス脳内の新生ニューロンの興奮を抑制することを目指した。

### 【方 法】

pNestin-CreERT2 マウス(以降 Nestin マウスと表記)に CAG-loxP-stop-loxP(LSL)-eNpH3.0 マウス(以降 Halo マウス)を交配し、NestinHalo マウスを作成した。このマウスが成獣となった時点で Tamoxifen という薬剤を投与することで Cre 酵素が神経前駆細胞のゲノムの LSL 配列を除去する。これにより、Tamoxifen 投与期間に生まれた新生ニューロンに選択的に Halorhodopsin 光受容体(Halo)を発現させることができる。Halo はオレンジ色の光に反応し神経細胞内に Cl<sup>-</sup>イオンを流入されるため神経の興奮を抑制することができる。脳波・筋電極を設置することで睡眠をリアルタイムで解析することを可能にする。恐怖記憶学習課題にはコンテキスト条件付け恐怖記憶学習課題を用いる。これに加え、睡眠・覚醒状態に依存的な新生ニューロンの興奮を観察するために、Ca センサーを用いたリアルタイムイメージング技術を開発することとした。

### 【結 果】

論文未発表のため残念ながらデータの詳細を記載することは困難であるが、非常に興味深いデータを多数取得しており、早期の論文発表を目指している。その一部について紹介する。

Nestin/Halo マウスの歯状回において、スライスパッチクランプ法を用いて、オレンジ色の光照射をした期間に限定して新生ニューロンの興奮抑制が可能となることを証明した。さらに、リアルタイムで睡眠を分析しながら特定の睡眠ステージに選択的に光照射し、新生ニューロンの興奮を制御するシステムを構築した。これには機械学習アルゴリズムを用いたオートステージング技術の開発の成功が大きく寄与した。別研究では有るが、この方法を使って睡眠中に音で恐怖記憶を減弱させうることを示した<sup>3)</sup>。最近の研究結果から、恐怖記憶学習直後には海馬および前全頭皮質の相互作用が非常に重要な役割を果たすことが示されている。我々は今回新たに、この時間帯に、この相互作用を介すると考えられ得る情報処理シス

テムのスイッチングの鍵となる現象を行動学的に見出した。この現象は睡眠依存的であり海馬依存的な機構であることを裏付ける行動薬理学的治験を得た。さらに我々は自由行動下でリアルタイムに新生したニューロンの活動を特異的にモニター可能とする技術を、以前開発した電気生理学的手法<sup>4)</sup>から発展させ、蛍光 Ca センサーと超小型内視鏡を使うことで完成させた。これにより世界で初めて睡眠・覚醒サイクル中の新生ニューロンの活動が明らかになった。

## 【考 察】

我々は成体脳で新生するニューロンが、睡眠中の記憶固定化に果たす役割を明らかにしつつ有る。実際に、新生ニューロンが睡眠中に記憶を固定化する際に、学習依存的にどのような活動パターンを示すかの解析を進めている。今後本研究を継続することで、ほ乳類だけが持つ新生ニューロンの睡眠中の興奮を介した特徴的な記憶学習メカニズムの一端を明らかにすることが可能と考えられる。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

記憶の汎化と新生ニューロンの関係が明らかになることで、新生ニューロンの数を増減させるような(例えばランニングなど)治療介入法が考案可能となる可能性が有る。また、睡眠との関連によってより深いトラウマ記憶の処理メカニズムが明らかになり、認知行動療法の改善につながる可能性が有る。

## 【参考・引用文献】

1. M. Arruda-Carvalho, **M. Sakaguchi**, K. G. Akers, S. a. Josselyn, P. W. Frankland, Posttraining Ablation of Adult-Generated Neurons Degrades Previously Acquired Memories. *J. Neurosci.* 31, 15113-15127 (2011).
2. A. Fujinaka and **M. Sakaguchi\*** et al., Effect of context exposure after fear learning on memory generalization in mice. *Mol. Brain.* 9, 2 (2016).
3. R. Purple\*, T. Sakurai, **M. Sakaguchi\***, Auditory conditioned stimulus presentation during NREM sleep impairs fear memory in mice, *Sci. Rep.*, 7:46247, 2017 Apr, \*=corresponding authors, press release, DOI: 10.1038/srep46247.
4. **M. Sakaguchi** et al., Inhibiting the activity of CA1 hippocampal neurons prevents the recall of contextual fear memory in inducible ArchT transgenic mice. *PLoS One.* 10, 1-11 (2015).