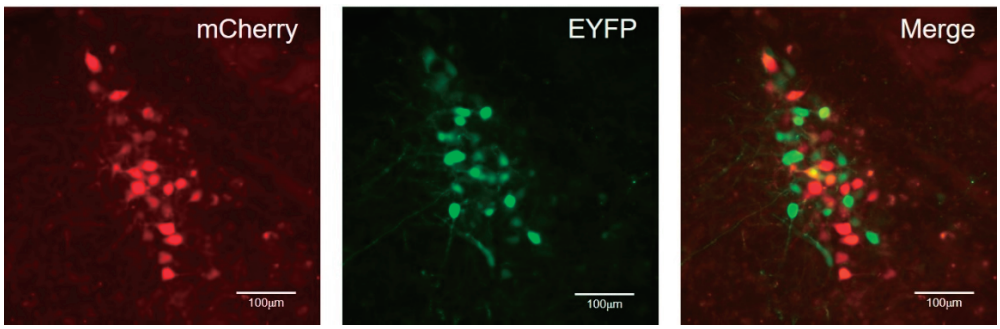
18　統合的に記憶を制御する神経回路メカニズム	雨宮　誠一朗

【目的】私たちの行動を支える脳機能である記憶は、意識的に想起する過去の体験や知識などの宣言的記憶と無意識的に想起される習慣や条件反射などの手続き的記憶に分類される。これらの性質の異なる記憶を状況に応じて統合的に制御することが、柔軟で適応的な行動に重要であると考えられている。これまでに我々は、この記憶間の制御に神経伝達物質のノルアドレナリンが関与することを明らかにしてきた。ノルアドレナリンは脳幹に位置する脳領域の青斑核を構成するノルアドレナリン作動性ニューロンにより脳全体へ放出されるが、青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロンによる記憶間の統合的な制御の神経回路メカニズムは不明である。本研究では、青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロンが宣言的記憶に関わる前頭前野と手続き的記憶に関わる扁桃体を調節する神経回路メカニズムを明らかにすることを目的とした。

【方法】青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロンと記憶関連領域が構成する神経回路を解析するため、前頭前野と扁桃体へ投射する青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロンをそれぞれ異なる蛍光タンパク質（mCherry、EYFP）で標識した。また、記憶関連領域におけるノルアドレナリン動態を検討するため、新規環境学習中マウスの前頭前野におけるノルアドレナリン放出をノルアドレナリンセンサーGRAB-NE を用いたファイバーフォトメトリー法により検討した。

【結果】前頭前野と扁桃体へ投射する青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロンを標識した結果、mCherry と EYFP の両方の蛍光タンパク質で標識された青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロンは少なく、多くの青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロンは mCherry あるいは EYFP の一方の蛍光タンパク質で標識された。これにより、前頭前野と扁桃体が異なる青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロン群と神経回路を形成していることが示された。また、新規環境学習中のマウスの前頭前野のノルアドレナリン動態は、宣言的記憶に基づく行動が優位となる環境探索開始直後に増加し環境の学習が進むにつれて減少した。これらの結果から、性質の異なる記憶は異なる青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロン群の働きにより制御がされていることが示唆された。

前頭前野と扁桃体に投射する青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロンの標識



18. 統合的に記憶を制御する神経回路メカニズム

雨宮　誠一朗

理化学研究所 脳神経科学研究センター 神経回路・行動生理学研究チーム

Key words：宣言的記憶，手続き的記憶，青斑核，ノルアドレナリン

緒　言

記憶は経験や知識などを保持しそれらを思い出し推論や思考などを可能とする脳機能であり、柔軟な行動の根幹である。記憶はその性質から、意識的に想起する過去の体験や知識などの宣言的記憶と無意識的に想起される習慣や条件反射などの手続き的記憶に大別される。これらの異なる性質の記憶の相互関係が行動調節に重要であること［1］、この記憶間の制御の不全が行動障害の原因の一つであることが考えられている［2］。しかし、これまでの先行研究により個々の記憶についての理解は進んできた一方で、脳が性質の異なる記憶を統合的に制御するメカニズムについては見過ごされてきている。そのため性質の異なる記憶の統合に基づき行動がどのように調節されるのかについての知見は乏しい。

脳内メカニズム研究により、異なる記憶が別々の脳領域に依存する実態が明らかになってきている。先行研究により、宣言的記憶には大脳の前方部の前頭前野と大脳辺縁系に含まれる海馬が、手続き的記憶については大脳の基底部に位置する背外側線条体と大脳辺縁系に含まれる扁桃体が関与することが報告されていた。我々はこれまでに、それらの異なる記憶に関連する脳領域の環境学習中の行動への関与の変化から、不確かな状況では宣言的記憶に基づく熟慮的な行動選択がなされ、学習が進むと手続き的記憶に基づく反射的な行動選択へと移行することを明らかにしている［3，4］。さらに我々は、この状況に応じた記憶の移行に神経伝達物質のノルアドレナリンが関与することも明らかにしている［4〜7］。ノルアドレナリンは、脳幹部の脳領域である青斑核から脳の広範な領域に投射するノルアドレナリン作動性ニューロン（神経細胞）により脳全体に放出され、様々な脳機能を調節していることが知られている［8］。しかし、青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロンがどのように複数の記憶関連領域を調節し記憶の移行を制御しているのかについては不明である。

本研究では、性質の異なる記憶の統合的な制御機構の解明に向け、青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロンが宣言的記憶に関わる前頭前野および手続き的記憶に関わる扁桃体を調節する神経回路メカニズムを明らかにすることを目的とした。本研究により、前頭前野と扁桃体は異なる青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロン群と神経回路を形成していることが示され、性質の異なる記憶は異なる青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロン群により制御されていることが見出された。

方法および結果

1. 青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロンと記憶関連領域の神経回路の解析

ノルアドレナリン作動性ニューロンに Cre リコンビナーゼを発現させた遺伝子改変マウス Noradrenaline transporter-Cre（NAT-Cre）およびカテコールアミン作動性ニューロンに Cre リコンビナーゼを発現させた遺伝子改変マウス Tyrosine hydroxylase-Cre（TH-Cre）を用いた。カテコールアミンとはノルアドレナリンを含む生体アミンの総称である。TH-Cre マウスの前頭前野および扁桃体に Cre を発現するニューロン特異的に目的遺伝子を導入するための逆行性アデノ随伴ウイルスベクターを投与し、前頭前野と扁桃体へ投射する青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロンにそれぞれ蛍光タンパク質の mCherry あるいは EYFP の遺伝子を導入し標

識した。この結果、mCherry と EYFP の両方の蛍光タンパク質で標識された青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロン数は少なく、多くの青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロンは mCherry あるいは EYFP の一方の蛍光タンパク質で標識されていた（図 1）。これは前頭前野と扁桃体へ投射している青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロンが異なるニューロン群であることを示している。NAT-Cre マウスについても同様の方法により多くの青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロンが mCherry あるいは EYFP の一方の蛍光タンパク質で標識されることを観察し、異なる青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロン群が前頭前野と扁桃体へ投射していることを確かめた。

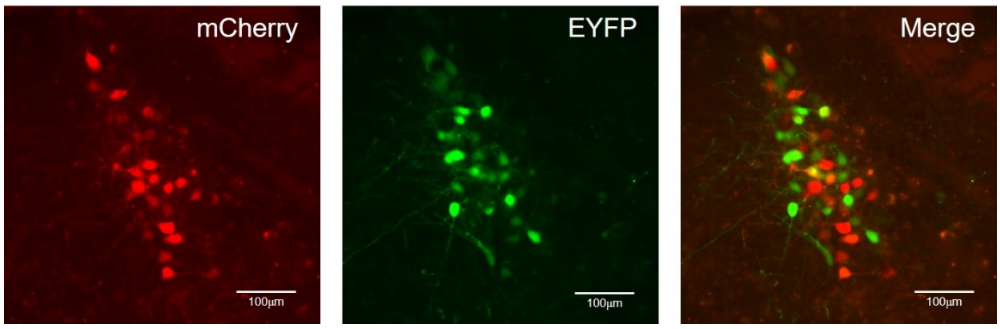


図 1. 前頭前野と扁桃体に投射する青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロン

TH-Cre マウスの前頭前野に投射する青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロンを mCherry で、扁桃体に投射する青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロンを EYFP でそれぞれ標識した。

左）mCherry で標識された前頭前野に投射する青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロン。

中）EYFP で標識された扁桃体に投射する青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロン。

右）前頭前野と扁桃体へ投射する青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロンの画像の重ね合わせ。mCherry と EYFP で標識された青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロンのオーバーラップはほとんどみられない。

スケールバー：100 μ m。

2. 青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロンが投射する記憶関連領域におけるノルアドレナリン動態

環境学習中のマウスの青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロンが投射する脳領域におけるノルアドレナリン動態を検討した。ノルアドレナリン動態は、細胞外ノルアドレナリンに反応して蛍光を変化させる蛍光ノルアドレナリンセンサーである GRAB-NE を用いたファイバーフォトメトリー法により計測した。麻酔下の NAT-Cre マウスの前頭前野に対して GRAB-NE 遺伝子を挿入したアデノ随伴ウイルスベクターを投与し、同時に前頭前野に蛍光変化を計測するための光ファイバーを慢性的に埋め込んだ。回復期の後、マウスに新規環境を自由探索させ、探索中の前頭前野におけるノルアドレナリンセンサーの蛍光変化量を記録した。記録した蛍光変化データは MATLAB を用いて解析した。解析の結果、ノルアドレナリンセンサーの蛍光変化量はマウスが環境の探索を開始した直後に増加し、探索の時間の経過とともに減少した（図 2）。

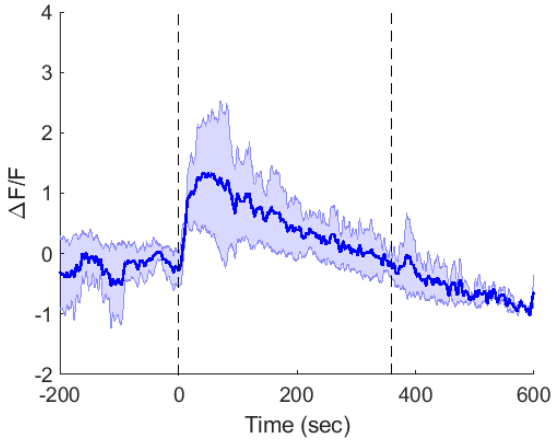


図2. 環境学習中の前頭前野におけるGRAB-NEの蛍光変化量
環境学習中マウスの前頭前野におけるノルアドレナリン動態をノルアドレナリンセンサーGRAB-NEを用いたファイバーフォトメトリー法により測定した。ノルアドレナリンセンサーの蛍光変化量は環境探索開始（Time 0）直後に増加し、探索時間の経過とともに減少した。点線は探索開始時点と探索終了時点を示している。

考　察

本研究において、青斑核の異なるノルアドレナリン作動性ニューロン群が前頭前野および扁桃体とそれぞれ神経回路を形成していることが明らかになった。この結果は、前頭前野と扁桃体が各々異なるノルアドレナリン作動性ニューロン群により調節されていることを示唆している。さらに本研究では、宣言的記憶に関与する前頭前野においてノルアドレナリンが新規環境の探索開始時に増加し学習に伴い減少していくことが示された。この前頭前野におけるノルアドレナリン動態は、不確かな環境では宣言的記憶に基づく行動が優位となり、環境の学習に伴い宣言的記憶から手続き的記憶に基づく行動へと移行するとの知見に付合する［3，4］。これらのことから、記憶の統合的な制御は異なる青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロン群の協調的な活動により行われていることが考えられる。今後さらに、青斑核ノルアドレナリン作動性ニューロンの解剖学的、生理学的、機能的な多様性を明らかにしていくことで、記憶の統合的な制御機構の全容解明に貢献することが期待される。また、ノルアドレナリン作動性ニューロンはストレスや情動に起因する行動変容にも関与することから［2］、本研究の成果と発展は、疾患等に伴う行動障害の解明と治療への応用も期待される。

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、理化学研究所脳神経科学研究センターの Thomas McHugh チームリーダーである。上原記念生命科学財団からの本研究に対するご支援に深謝申し上げます。

文　献

1） Ferbinteanu J. Memory systems 2018 - Towards a new paradigm. Neurobiol Learn Mem. 2019 Jan;157:61-78. doi: 10.1016/j.nlm.2018.11.005. Epub 2018 Nov 13. PMID: 30439565; PMCID: PMC6389412.

2) Amemiya S, Ishida M, Kubota N, Nishijima T, Kita I. Stress drives deliberative tendencies by influencing vicarious trial and error in decision making. Neurobiol Learn Mem. 2020 Oct;174:107276. doi: 10.1016/j.nlm.2020.107276. Epub 2020 Jul 18. PMID: 32693161.
3) Regier PS, Amemiya S, Redish AD. Hippocampus and subregions of the dorsal striatum respond differently to a behavioral strategy change on a spatial navigation task. J Neurophysiol. 2015 Sep;114(3):1399-416. doi: 10.1152/jn.00189.2015. Epub 2015 Jun 17. PMID: 26084902; PMCID: PMC4556844.
4) Amemiya S, Redish AD. Manipulating Decisiveness in Decision Making: Effects of Clonidine on Hippocampal Search Strategies. J Neurosci. 2016 Jan 20;36(3):814-27. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2595-15.2016. PMID: 26791212; PMCID: PMC4719017.
5) Amemiya S, Redish AD. Hippocampal Theta-Gamma Coupling Reflects State-Dependent Information Processing in Decision Making. Cell Rep. 2018 Mar 20;22(12):3328-3338. doi: 10.1016/j.celrep.2018.02.091. PMID: 29562187; PMCID: PMC5929482.
6) Amemiya S, Kubota N, Umeyama N, Nishijima T, Kita I. Noradrenergic signaling in the medial prefrontal cortex and amygdala differentially regulates vicarious trial-and-error in a spatial decision-making task. Behav Brain Res. 2016 Jan 15;297:104-11. doi: 10.1016/j.bbr.2015.09.002. Epub 2015 Sep 2. PMID: 26341318.
7) Amemiya S, Noji T, Kubota N, Nishijima T, Kita I. Noradrenergic modulation of vicarious trial-and-error behavior during a spatial decision-making task in rats. Neuroscience. 2014 Apr 18;265:291-301. doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.01.031. Epub 2014 Jan 28. PMID: 24480363.
8) Poe GR, Foote S, Eschenko O, Johansen JP, Bouret S, Aston-Jones G, Harley CW, Manahan-Vaughan D, Weinshenker D, Valentino R, Berridge C, Chandler DJ, Waterhouse B, Sara SJ. Locus coeruleus: a new look at the blue spot. Nat Rev Neurosci. 2020 Nov;21(11):644-659. doi: 10.1038/s41583-020-0360-9. Epub 2020 Sep 17. PMID: 32943779; PMCID: PMC8991985.