

氏名	かりーむ まひむーど いぶらひむ あぶどう Kareem Mahmoud Ibrahim Abdou
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	富生命博甲第98号
学位授与年月日	平成30年3月23日
専攻名	認知・情動脳科学専攻
学位授与の要件	富山大学学位規則第3条第3項該当
学位論文題目	The physiological determinant of the storage of memory trace identity (記憶痕跡を維持する生理学的要因)
論文審査委員	
(主査)	教授 西条 寿夫
(副査)	教授 高雄 啓三
(副査)	教授 鈴木 道雄
(副査)	教授 中辻 裕司
指導教員	教授 井ノ口 馨

ABSTRACT:

Throughout the life, our brains form several memories that are encoded in specific neuronal ensemble, called engram cells. Some of these memories are associated and stored in shared ensemble. However, brain machinery that underlies memory storage and defines certain memory identity amidst numerous number of memories stored in the same ensemble is poorly understood. Here we show that autophagy contributes to fear memory destabilization through inhibiting autophagy activity in the amygdala. Then, we showed that autophagy induction can overcome a boundary condition of a resistant auditory fear memory which depended on AMPAR endocytosis. In contextual fear conditioning, autophagy induction in the amygdala, enhanced fear memory destabilization and when combined with anisomycin, complete retrograde amnesia was attained. Moreover, using auditory fear conditioning and c-fos-TetTag system, optogenetic stimulation of the activated ensemble terminals of auditory cortex (AC) and medial geniculate nucleus (MGm) in lateral amygdala (LA) after complete retrograde amnesia, failed to induce memory recall at recent and remote time points, indicating that memory engram no longer exists in that circuit. This result was correlated with the resetting of plasticity and functional connectivity between the engram assemblies. Furthermore, potentiating or depotentiating the plasticity at synapses specific to a given memory did not affect the linked memory that is encoded in the same ensemble, suggesting that memories are stored in specific synapses. These findings demonstrate that when two associative memories are encoded in shared ensemble, synapse specific plasticity delineates specific memory identity and that specific engram plasticity is both sufficient and crucial for information storage. Moreover, our study sheds light on the capability of selective and integral erasure of memory trace from the engram network, suggesting a potential way to treat post-traumatic stress disorder (PTSD).

【論文審査の結果の要旨】

〔目的〕

記憶は、出来事に対応して活性化されるエンGRAM細胞と呼ばれる脳内の特異的な神経集団に保存される。記憶の想起はタンパク質の分解による記憶の不安定化を引き起こすが、続いてタンパク質合成依存的な記憶の再固定化を経て、再び安定した状態へと戻る。想起後にタンパク質合成阻害剤anisomycinを投与すると部分的な逆行性健忘を引き起こすが、記憶はエンGRAM細胞に保持された状態で残る。Abdou君は、不安定化を誘導するとともに再固定化を阻害すると、記憶の完全な消去ができるのではないかと仮説を立てた。また、脳は多くの記憶を同じ細胞集団にコード化することができる。それぞれの記憶は区別されておりそれぞれの特異性を保っているが、そのメカニズムは不明である。Abdou君は、シナプス特異的なシナプス可塑性が記憶の特異性を担保している可能性を検討した。

〔方法〕

音 - 恐怖条件付けの間に活性化した神経細胞にoChIEFタンパク質を発現させるため、c-Fos/tTAトランスジェニックマウスの聴覚皮質 と 聴覚視床にアデノ随伴ウイルスを注入した。薬剤は想起の直後に注入し、1日後にその効果をテストした。次に、オプシンoChIEFを発現したエンGRAM細胞の軸索終末を光刺激し、長期増強(LTP) 誘導への効果、および薬剤注入の効果をテストした。薬剤注入後のシナプス可塑性をチェックするため、光依存性LTP誘導によるLTPオクルージョン実験を行い、シナプス応答を記録した。さらに、エンGRAM集団間の結合パターンを調べるため、免疫組織化学を行った。また、マウスを5時間間隔で2つの異なった音恐怖記憶に暴露し、共通の神経細胞集団にそれらの記憶を保存させ、記憶A (7kHzの音+ショック) の想起後には生理食塩水を、記憶B (2kHzの音+ショック) の想起後にはanisomycinとオートファジー亢進ペプチドtat-beclinを注入した。さらに、記憶Aのシナプスで光依存性長期抑制(LTD)を誘導し、両方の記憶に対する効果を調べた。最後に両方の記憶をanisomycinとtatbeclin を用いて消去した後に、記憶Aに対応するシナプスに光依存性LTPを誘導し、両方の記憶に対する影響をテストした。

〔結果〕

恐怖記憶の想起後にanisomycinを投与すると逆行性健忘を誘導したが、オートファジー阻害剤のSpautinを想起前に投与するとanisomycinの効果が阻害された。また、tat-beclin とanisomycinの投与はエンドサイトーシスされたAMPA受容体の分解を通じて、完全な逆行性健忘を誘導した。さらに、聴覚皮質(AC)および内側膝状核(MGm)から外側扁桃核(LA)に投射し、記憶形成時に活性化したエンGRAM細胞集団の軸索終末を光遺伝学的に活性化しても記憶想起を誘導しなかった。一方で、光依存性にLTPを誘導すると記憶を部分的に想起することができるようになった。これらの結果を通じてAbdou君は、オートファジー活性の亢進により想起に伴う記憶の不安定化が促進されるために、その後の再固定化の阻害が完全な逆行性健忘を引き起こすこと、さらに、完全な逆行性健忘により、記憶痕跡自体が脳から消失していることを初めて示した。

一方、マウスに2つの異なる音恐怖記憶を短い期間内で形成させると、これらの記憶はLAでは共通した記憶エンGRAM細胞に保存されたが、ACでは異なるエンGRAM細胞に保存された。記憶Aを完全に健忘させても、共有されたLAエンGRAM細胞にコードされているにも関わらずもう一方の記憶Bには影響がなかった。さらに、記憶Aに対応するシナプスにLTDを誘導すると、

記憶Bには影響を与えずに、記憶Aの想起のみを抑制した。両記憶の消去後、記憶Aに対応するシナプスにLTPを誘導すると、記憶Aを再構築することに成功したが、記憶Bは消去されたままだった。

〔総括〕

本研究でAbdou君は、オートファジーがAMPA受容体の分解を通じて記憶不安定化に関与すること、オートファジー活性化により完全な逆行性健忘を誘導できることを明らかにした。重要なこととして、完全な逆行性健忘の誘導後にはエンGRAM細胞はもはや記憶情報を保持していないことを初めて明らかにした。一方、Abdou君は、エンGRAM細胞を共有して記憶同士が関連付けられながらも、個々の記憶の特性はシナプス特異的可塑性により担保されていることを明らかにした。また、Abdou君の研究は、特定の記憶エンGRAMを選択的かつ完全に消去できることを示しており、外傷後ストレス障害などに対する有効な治療法創出の可能性を示している。

以上より、Abdou君は、記憶研究における重要な問題である「健忘と記憶痕跡の関係」、「記憶のアイデンティティの担保メカニズム」の2つを明らかにした。シナプス入力特有の可塑性と記憶のアイデンティティとの因果関係の解明は新規性が非常に高く、完全な逆行性健忘誘導は記憶痕跡の消失を伴うことの発見は、医学においてきわめて高い重要性を持つと評価された。さらに、特定の記憶エンGRAMのみを選択的、かつ、完全に消去できる原理の発見は高い臨床的発展性を有すると判断された。以上から、本審査委員会は本論文をきわめて価値の高いものであると評価し、博士（医学）の学位に充分値するものと判定した。