

氏名 あり もはめど あり もはめど あぶでらてふ しゅくり
Ali Mohamed Ali Mohamed Abdellatif Choucry

学位の種類 博士 (医学)

学位記番号 富生命博甲第 128 号

学位授与年月日 令和 3 年 3 月 23 日

学位授与の要件 富山大学学位規則第 3 条第 3 項該当

教育部名 富山大学大学院生命融合科学教育部 博士課程
認知・情動脳科学 専攻

学位論文題目
Forgetting unveils a temporal transition of engram function
(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 一條 裕之
(副査) 教授 鈴木 道雄
(副査) 教授 田村 了以
(副査) 教授 中辻 裕司

(指導教員) 教授 井ノ口 馨

Abstract:

Every memory we encode affects how we process future events, even memories we no longer know we have. How forgotten memories continue to interact with and affect new experiences remains unclear. Memories are initially encoded in a fragile state in a population of neurons called a memory engram, before undergoing consolidation into a more stable form with proper rest or sleep. Hippocampal memory engrams encode episodic memories, and recall said memories upon reactivation. The novel object place recognition (NOPR) paradigm is a hippocampal-dependent task, whereby animals learn the locations of identical objects in a familiar environment. I tracked the persistence of the NOPR memory and identified a time-dependent state transition of the hippocampal engram from a spontaneously retrievable (vocal) state, into a mute state that retains a silent memory trace that is only retrievable by artificial engram stimulation. I added a weaker, modified episode at either the vocal or the mute time points of the initial memory and found that only the mute engram induced the consolidation of the weak memory. This effect required the internalization of synaptic glutamate receptors. I bidirectionally manipulated the NOPR engram across its transition point, successfully inducing a loss and gain in its ability to consolidate the weak event's memory when vocalized or inhibited, respectively. My study shows that the hippocampus retains a mute trace of forgotten memories that affects processing of future events, causally unveiling a previously unknown cognitive effect of forgetting.

学位論文審査の要旨

報告番号	富生命博甲第 号 富生命博乙第 号	氏 名	Ali Mohamed Ali Mohamed Abdellatif Choucry
論文審査委員	職 名	氏 名	
	(主査) 教授	一條 裕之	
	(副査) 教授	田村 了以	
	(副査) 教授	鈴木 道雄	
(副査) 教授	中辻 裕司		
指導（紹介）教員	教授	井ノ口 馨	
(論文題目 英文の場合は和訳, 日本文の場合は英訳を付記すること) Forgetting unveils a temporal transition of engram function (記憶痕跡を維持する生理学的要因) (論文審査の要旨)			(判定) 合格
<p>【目的】 学習時に活動した特定のニューロン集団のネットワークは物理的な痕跡（記憶痕跡、エングラム、engram）として、海馬に残ることが知られている。記憶は休息や睡眠というアイドリング状態を通じて固定化され、エングラムの再活性化によって想起される。個体は環境の中で常に新しい記憶を形成する一方で、古い記憶を忘却するが、長い間、忘却は受動的なプロセスと考えられてきた。しかしながら、ヒトにおける知見は、想起することができない記憶が将来の行動に影響を与えることを示唆している。さらに動物実験による知見は、忘却が積極的な現象であることを示しているが、忘却の生物学的機能の詳細はこれまで明らかではなかった。記憶の痕跡を含むが、もはや想起の手がかりに反応しないミュートエングラム（mute engram）と呼ばれるニューロン集団が知られている。ミュートエングラムは人工的な刺激によって想起を引き起こすと報告されているが、自然の状態では想起可能なエングラムに戻るか、また、戻る場合にはどのようにして元に戻るかを探索した研究はなかった。さらに、ミュートエングラムとその他のエングラムの相互作用を探索した研究はなく、ミュートエングラムがその他の記憶に及ぼす影響は不明である。本研究は、ミュートエングラムが記憶に及ぼす影響を明らかにすることを目的として行われた。</p> <p>【方法】 ミュートエングラムの機能とエングラム間の相互作用を研究するために、マウス新奇物体位置認識パラダイム（NOPR: novel object place recognition）を利用した。実験系はNOPRトレーニングとテストから構成され、長さの異なる二種類のトレーニングを準備した。長いトレーニング（15分間）は長期記憶のエングラムを確立する強いトレーニングである。強いトレーニングの記憶は経時的に減弱し、3～5日後には想起されない。短いトレーニング（4分間）は短期記憶を形成するが、1日後には想起を引き起こさず、ミュートエングラムを標識する弱いトレーニングである。二つのトレーニングを組み合わせ、その後のテストにおける二種類のトレーニング記憶の想起を指標として、エングラムとミュートエングラムの相互作用を検討した。エングラムを特異的に操作するために、ドキシサイクリン（Dox）で発現を抑制</p>			

する Tet-Off システムを利用した。*c-fos/tetracycline transactivator (tTA)* 遺伝子導入マウスに Dox 非存在下で強いトレーニングを行い、tTA の発現と tetracycline response element (TRE) の制御下で発現する DNA 組換え酵素 Cre を利用して、アデノ随伴ウイルスベクターによって導入した G 蛋白質共役の人工受容体 (シグナリングを正に制御する人工受容体 hM3D、または負に制御する受容体 hM4D) (DREADD: Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs) を、強いトレーニングで標識されたエンGRAM に発現させた。人工リガンド (Clozapine N-oxide) の投与によってエンGRAM の活動を特異的に操作した。

【結果】

二種類のトレーニングの記憶の想起を検討し、記憶の相互作用を調べ、シナプス機構を検討した。強いトレーニングの3~5日後で想起が失われた時期に、弱いトレーニングを行うと、弱いトレーニングの記憶が睡眠をへて固定化されて想起可能になると共に、強いトレーニングの忘却を阻害した。記憶間の相互作用は時期選択的で、3日以前には観察されなかったため、この新しい現象を「遠隔行動タグ付け (remote behavioral tagging, RBT)」と名付けた。

RBTにおけるエンGRAM間の相互作用機構を調べるために、強いトレーニングの記憶獲得の早期から、エンGRAMをDREADDによって持続して強制的に活動させた状態で、4日後に弱いトレーニングを行うと、RBTは観察されなかった。それに対して、エンGRAMの活動を抑制した状態で、2日後に弱いトレーニングを行うと、前倒してRBTが観察された。

記憶に伴ってシナプスにおいて受容体の細胞内取り込み (インターナリゼーション) がおき、AMPA (α -amino-3-hydroxyl-5-methyl-4-isoxazole-propionate) 型 L - グルタミン酸 (L-glutamate) 受容体のGluA2サブユニットのインターナリゼーションを薬理的に阻害すると、NOPR記憶が延長することが知られている。RBTのシナプス機構を調べるために、強いトレーニング後の2~4日にかけてGluA2サブユニットのインターナリゼーションを継続的に阻害した状態で、弱いトレーニングを行うと、RBTは観察されなかった。

【総括】

Ali Mohamed Ali Mohamed Abdellatif Choucry 氏は、想起されない記憶が過去の記憶と相互作用して、将来の行動に影響を及ぼす現象を発見し、遠隔行動タグ付け (remote behavioral tagging, RBT) と名付け、その神経機構の一端を明らかにした。RBTがおきる時間的な窓が開くには、AMPA受容体GluA2サブユニットのインターナリゼーションが必要と示唆され、エンGRAMの神経細胞活動性の多寡によって調節される事を明らかにした。明瞭な記憶を維持することは、抽象や演繹の前提となり、個体の生存の確率を高めることに寄与すると考えられるが、他方で、想起されない記憶と忘却は柔軟な学習に寄与し、動的な環境への適応に機能する可能性がある。さらに、想起されない記憶と忘却の機能障害が、強迫性障害などの病的な状態に関与する可能性がある。

以上のことから、想起される記憶と想起されない記憶が相互作用する現象を初めて明らかにした点は新規性が高く、その神経機構の一端を明らかにした点で学術的重要性が高い。以上より本審査会は本論文を博士 (医学) の学位に十分値すると判断した。