

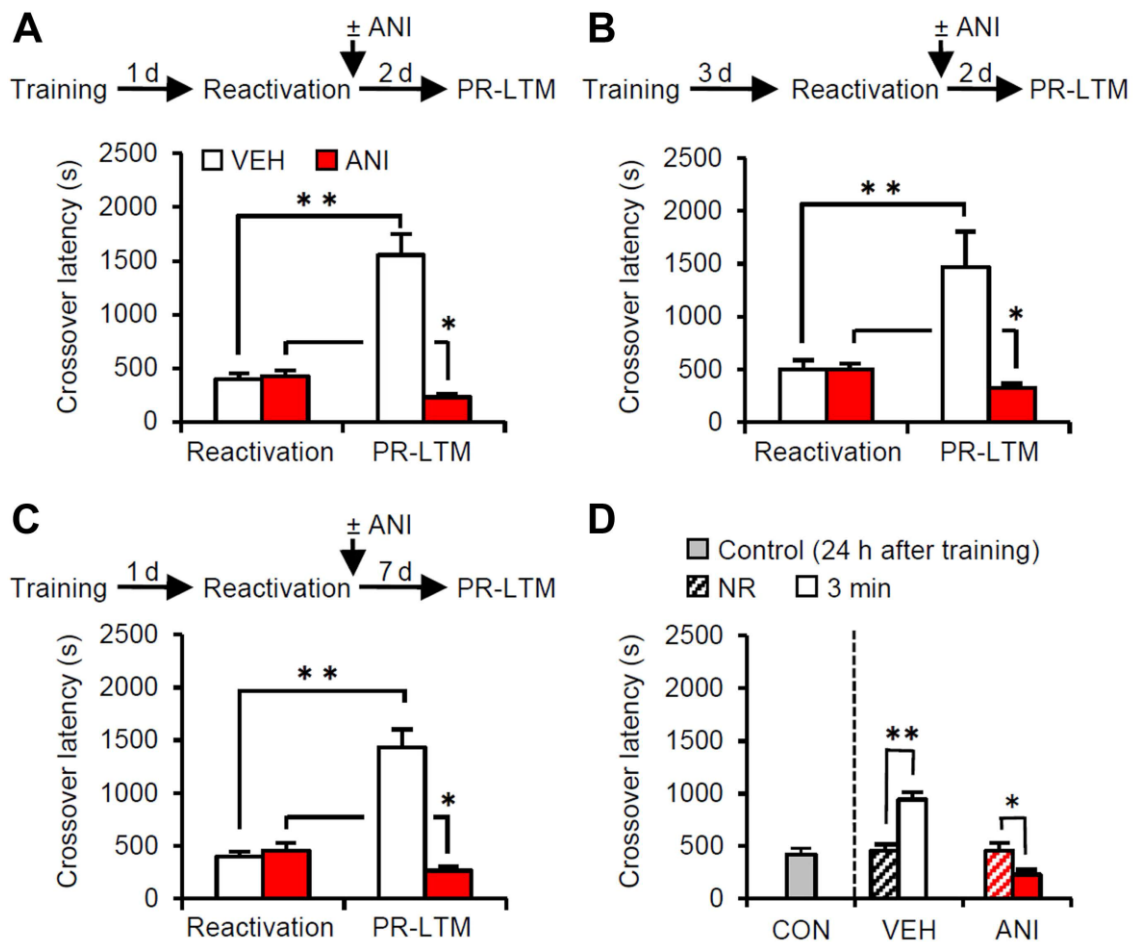
認知神経科学への興味：論文紹介

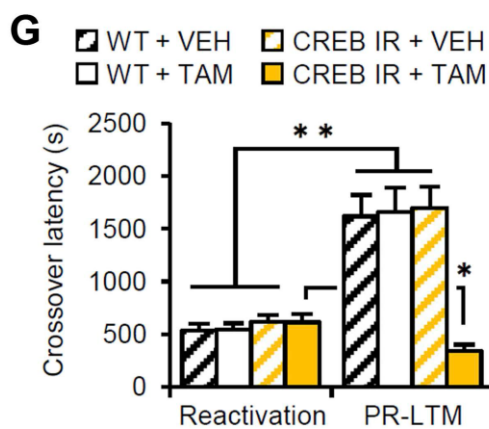
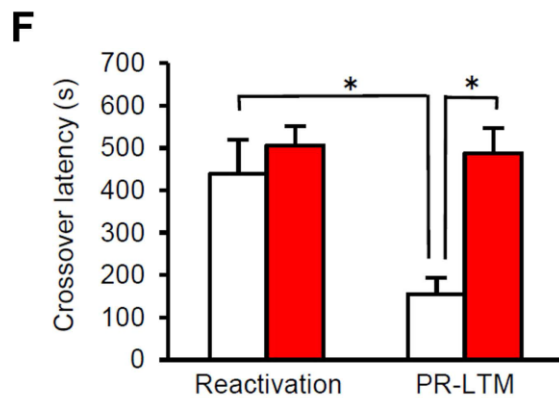
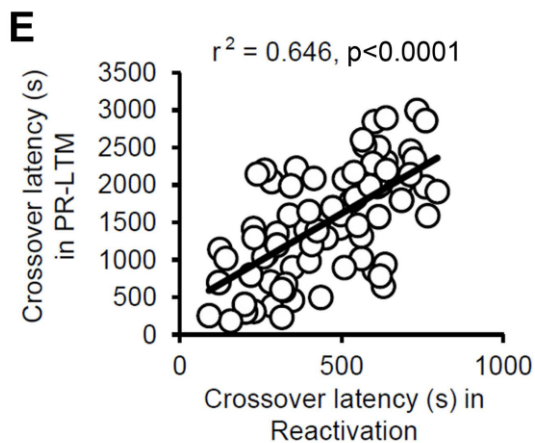
2021年3月-1

Fukushima, H. et al. Enhancement of fear memory by retrieval through reconsolidation. *eLife*, 3: e02736, 2014.

この論文は、retrieval (reactivation, re-exposure) で生じる reconsolidation が fear memory を enhance することを脳内の蛋白質分解、遺伝子発現から明らかにした。

被検体はマウスである。装置は明るい部屋と暗い部屋を連結させたもので、間にギロチンドアがある。課題は電撃を受けた部屋を避ける抑制的回避 Inhibitory avoidance, IA である。なお、マウスは暗い部屋を好む。明るい箱に入れられたマウスが暗い箱に入るとドアを閉じ、電撃を与えた。24 時間後にマウスを明るい部屋に入れた (Reactivation)。その長さは、0 分、3 分、マウスが暗い部屋に入るまでだった。暗い部屋に電撃はない。その 48 時間後に再びマウスを明るい部屋に入れ、fear memory の指標として、暗い箱に入るまでの潜時を測定した。まず、タンパク質合成の阻害の効果をも anisomycin, ANI を reactivation 直後に投与し、検討した。下の図を参照されたい。VEH が control である。





前ページ図 A が結果である。VEH の結果は Reactivation で IA memory が enhance されたことを示す。一方、ANI は潜時が低下させ、IA memory を混乱させた。Retrieval、すなわち reactivation は reconsolidation により記憶を enhance したと考えられた。図 B は Reactivation を 1 日でなく 3 日後に行い、図 C はテストを 2 日後でなく、7 日後に行った。いずれの場合も、結果は図 A と同じだった。図 D は reactivation の長さを操作した結果である。

図 A-C では、reactivation はマウスが明るい部屋から暗い部屋に入るまで行われた。図 D では NR (0 min) と 3 min とした。その結果、3 min の reactivation で、VEH では enhancement が、ANI では disruption がみられ、3 min の reactivation で reconsolidation による記憶の enhancement が起こった。図 E は reactivation 時の潜時とテスト時の潜時の相関で、有意な正の相関がみられた。この相関は、reactivation 時の記憶が enhance されたことを示すと考えられた。図 F は、明るい部屋から暗い部屋に入ったマウスを 3 min 間閉じ込めた結果で、VEH では潜時の減少、すなわち消去が起きるが、ANI はそれを阻害した。図 G は reactivation による fear memory の reconsolidation には、cAMP responsive element binding protein (CREB)-mediated transcription が必要である、という従来の結果の確認である。そこで、inducible CREB repressor (CREB^{IR}) transgenic mice (と wild-type, WT) を用いて、CREB-mediated transcription の抑制の効果を、図 A の手続きで検討した。Reactivation の 6 時間前に、CREB の活動を抑制する tamoxifen (TAM) と control の VEH を投与した。その結果、図 G にあるように、CREB IR マウスに TAM を投与した群で、reconsolidation が抑制され、従来の結果と一致した。

次に、記憶の reconsolidation と enhancement に関係する脳領域を、CREB 関連の c-fos と Arc を免疫組織化学的に計測することで、明らかにした。実験では、訓練する群 T としない群 U を設け、それぞれの群で、reactivation をする条件 R としない条件 NR を設けた。

下の図は結果で、図 A は免疫染色による c-fos positive の細胞である。図 B-D は c-fos の倍率変化で、T/R の条件のみで、扁桃核では外側核 LA, 基底外側核 BA で c-fos positive 細胞の有意な増加があったが、中心核 CeA では増加はみられなかった(図 B)。図 C は海馬の結果だが、CA1, CA3 で増加したが、歯状回 DG では増加はなかった。また、内側前頭前野 mPFC の prelimbic, PL と infralimbic, IL で c-fos positive 細胞が増加した (図 D)。図は載せないが、同様の結果が Arc の発現でもみられた。なお、下の表 2 は、reactivation 後の暗い箱に入る潜時と c-fos positive な細胞の間の相関である。LA, BA, CA1, CA3, PL, IL で有意な正の相関があった。前部帯状皮質 ACC, 視覚皮質 VC, 側頭皮質 TC, 周嗅皮質 PRh, 嗅内皮質 EC の相関は有意でなかった。

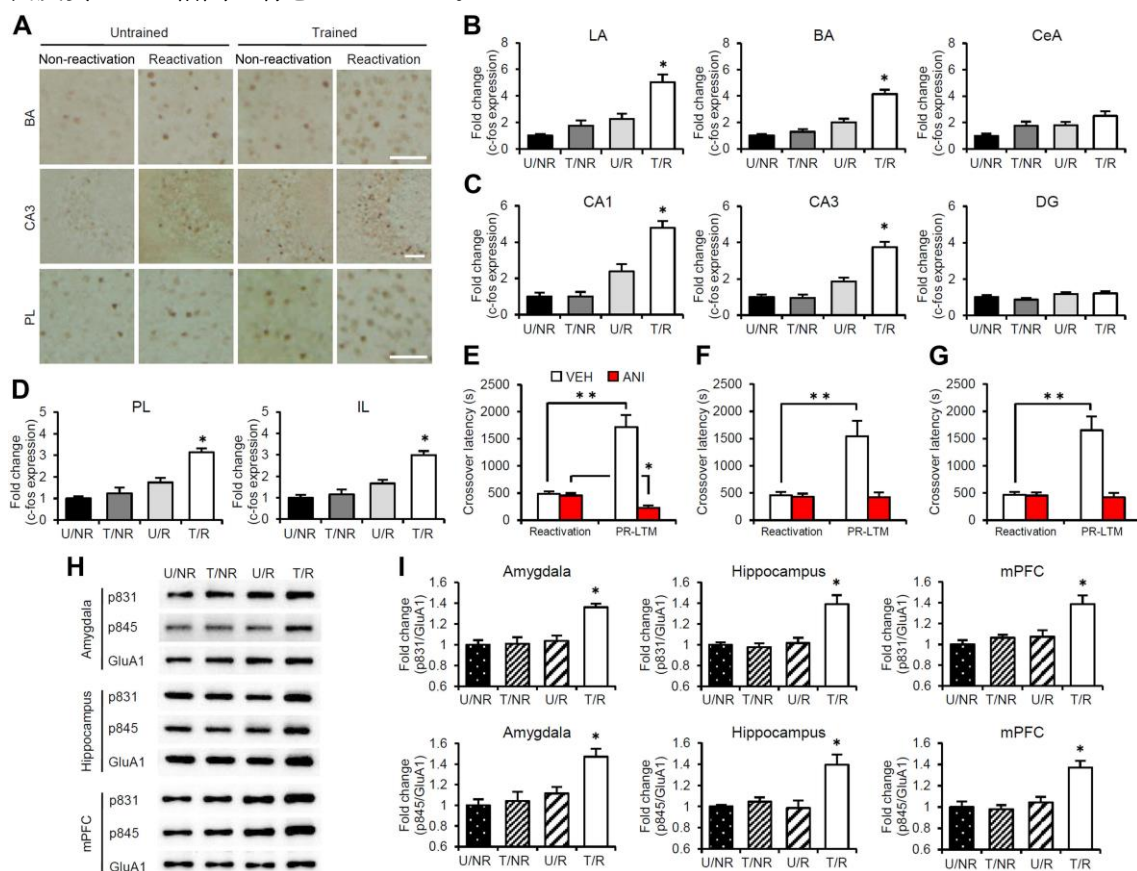


Table 2. Significant positive correlations between crossover latency and the number of c-fos-positive cells after the Reactivation session (n = 18)

Region	PL	IL	ACC	LA	BA	CeA	CA1	CA3	DG	VC	TC	PRh	EC
Correlation coefficient	0.574*	0.627*	0.202	0.612*	0.630*	0.346	0.646*	0.503*	0.360	0.571	0.362	0.074	0.202

*Significant positive correlation.

ACC: anterior cingulate cortex; BA: basolateral amygdala; CeA: central amygdala; DG: dentate gyrus; EC: entorhinal cortex; IL: infralimbic region; LA: lateral amygdala; PL: prelimbic region; PRh: perirhinal cortex; TC: temporal cortex; VC: visual cortex.

次に、reconsolidation/enhancement における扁桃核、海馬、mPFC の遺伝子発現の役割について検討した。そのために、最初のページの図 A の手続きで実験を行ったが、今回は Reactivation 直後に、ANI を直接扁桃核 (図 E)、海馬 (図 F)、mPFC (図 G) に投与した。その結果、扁桃核投与では暗い箱に入る潜時が Reactivation よりもテストで有意に短かつ

た。一方、海馬と mPFC 投与では潜時に差はみられなかった。これらの結果から、扁桃核への ANI は reactivate された fear の記憶の reconsolidation を disrupt するとともに、enhancement を抑制したが、海馬と mPFC への ANI は reconsolidation に関係なく、enhancement を抑制したと考えられた。扁桃核の遺伝子発現は reconsolidation と enhancement に必要だが、海馬、PFC の遺伝子発現は enhancement のみに関係した。

次に、fear の記憶が enhance された時には、AMPA 型グルタミン酸受容体 GluA1 の subunit の serine 831, serine 845 が LTP によりリン酸化されることを示した。前ページの図 I は上から扁桃核、海馬、mPFC の結果で、各領域上からリン酸化された 831, 845 と DluA1 の total のレベルである (western blot)。T/R でレベルが高い。それを棒グラフにしたのが図 J で、U/NR との比較である。いずれの領域でも T/R でレベルが高い。

この辺りは専門外で、キチンと説明できている自信がないので、ここで stop します。まだ分析は続くのですが、さらに詳しく知りたい方は直接論文に当たってください。ただ、興味深いと思った結果について簡単に付け加えると、この論文の電撃のない reactivation による reconsolidation と、電撃を用いた追加の学習による consolidation は、同様の結果をもたらすと思われるが、そのメカニズムは異なるとのことだった。

前回の Suzuki らの論文とこの論文を読んで、以前『認知神経科学への期待』で紹介した fear memory についての興味の出発点、発端となった実験について考えてみたい。特に前回の論文で面白いと思ったのは、fear memory の re-exposure, reactivation, retrieval は、その手続きにより、reconsolidation と extinction という相反する結果になるということ。

発端の実験は、今回の Fukushima らの実験と同じ抑制的回避である。発端のラットの試験では獲得から re-exposure までの時間が操作された。獲得後、10 分、1, 3, 6, 48 時間に電撃なしに元の装置に戻した。Re-exposure 時には、所謂 Kamin effect で、3 時間群は電撃を受けた黒い箱に入る個体が多かった。10 分と 48 時間群は回避傾向が強く、1, 6 時間群はその中間だった。そして、48 時間群を除くすべての群を 48 時間後にテストしたが、10 分と 1, 3 時間群は回避傾向が弱まり、6 時間群では回避傾向が強まった。

この結果を、今回読んだ論文で、獲得から 3 時間までの re-exposure は extinction を、6 時間以後は reconsolidation を引き起こすと考えてみた。この点を re-exposure 前後に ANI を投与することで検討できるだろうか。獲得後 3 時間以内の re-exposure で、ANI 投与は 48 時間後のテストにおける回避傾向を増大させ、6 時間以上後の re-exposure は回避傾向を減少させるかもしれない。

もう一つ興味深いのは、3 時間以内の e-exposure で起こるのは、extinction とは異なる過程かもしれないことである。確かに、re-exposure で 10 分群は電撃を受けた小さな黒い部屋に入るラットはほとんどいなかった。したがって、黒い部屋が安全という経験はない。しかし、テストでは黒い小部屋に入るラットが増加した。Re-exposure で生じるのが通常の

extinction でないとすると、reconsolidation に対応するものとして、仮に deconsolidation とでも名付けられる過程が生起しているのかもしれない。この点を行動的、神経化学的に検討するのも興味深いと思った。これは PTSD の生起を防止することに関係するだろう。