

山梨県若手研究者奨励事業 研究成果報告書

所属機関名 国立研究開発法人 理化学研究所

職名・氏名 特別研究員 出羽 健一



1 研究テーマ

恐怖記憶形成に伴う全脳アストロサイト活動の網羅解析

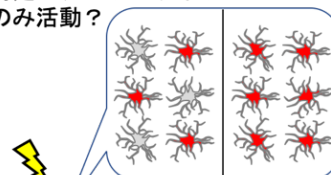
2 研究の背景

我々の脳は外界からの刺激を情報として処理し、記憶として貯蔵・想起することで、次の応答への素早く正確な反応を可能にしている。これまで記憶形成における神経細胞の重要性が説かれてきたが、実は非神経細胞（グリア）の一種であるアストロサイトが記憶・学習の一端を担うという報告が相次いでいる (Adamsky et al, Cell, 2018, Dewa et al., 2024)。既往研究では、技術的障壁により、あたかも全てのアストロサイトが同じ機能を発揮しているという前提のもと解析がなされている。しかし、実際にはアストロサイトは一様な細胞集団ではなく、同じ脳領域内でも遺伝的特性の異なるアストロサイトが複数存在することが報告されている。

3 研究の目的・ニーズ

100 年以上前から、形態的・機能的に異なるヒト脳アストロサイトが報告されてきた (Neuroglia, Oxford Journal, 2017)。近年、マウスを用いた研究から刺激あるいは加齢依存的にアストロサイトの発現プロファイルも変化することが報告されており (Yu et al., Neuron, 2020, Boisvert et al., Neuron, 2018)、集団としてのアストロサイトは脳内環境の変化に柔軟に対応していることがわかってきた。しかし同一の領域に存在し、同一の形態を持つアストロサイト達が、そのような同一の機能特性を共有しているのかは明らかにされてこなかった。つまり神経活動あるいは脳内環境変化に対して、全てのアストロサイトが同様に反応するのか、あるいは特定のアストロサイトのみが

特定のアストロサイト
のみ活動？



全てのアストロサイト
が一斉に活動？

反応するのかという根本的な問いに対する答えは示されていない。これを解決する為には、脳全体のアストロサイト活動を時空間的に切り分けて解析することが必要であり、本研究は技術開発を通してこれを実現する。

4 研究の方法

マウスやウイルスベクターを用いた遺伝学やアストロサイト特異的摂動法を基軸に、全脳イメージングや条件付け記憶アッセイを組み合わせた実験系を構築した。これにより、アストロサイト活動依存的に様々な外来遺伝子（蛍光蛋白質や光・薬理遺伝学プローブなど）を行動/状態特異的に発現誘導することができ、アストロサイトの詳細な形態とカルシウム動態の可視化、さらには光遺伝学・薬理遺伝学を駆使しての活動興奮・抑制の誘導などの遺伝学的神経活動操作を行うことが可能となる。

5 研究の成果

【成果1】全脳イメージングによる標識細胞の検出するため、高い蛍光強度を持つ蛍光タンパクを導入したアストロサイト標識ツールを開発した。これと眼窩投与による感染が可能なウイルスベクターを用い、アストロサイト活動の標識ツールが全脳で機能することを確かめた。その結果、このツールのアストロサイトへの感染効率は95%以上であることが示された。また、アストロサイト特異性を確かめるため神経細胞マーカーとの共染色を行なったが、神経細胞へのリークは5%未満であった。

【成果2】成果1で示したアストロサイト活動依存的な外来遺伝子発現誘導系を用いて、行動/状態特異的な全脳アストロサイト活動のマッピングを行った。具体的には、恐怖条件づけ記憶の記銘及び想起の過程を伴うマウスモデルを用いた。その結果として、それぞれの行動/状態固有のアストロサイト活動分布が明らかになった。これらの知見は今後予定されているアストロサイト活動の実験による機能解析の重要な基盤となる。

5 今後の展望

構築した全脳マッピングシステムを活用し、全脳および特定領域のグリアアストロサイト活動のトレース実験を行うことにより、行動時のアストロサイト活動の相関および因果律の解明を目指す。具体的には、薬理遺伝学や細胞特異的な遺伝子ノックアウトを駆使することによって、あらゆる学習記憶課題におけるアストロサイト活動の回路機能およびメカニズムを解析する。また、上記の遺伝子発現ツールを用いた活動操作実験により、これらのアストロサイトの機能を解析していく。

6 研究成果の発信方法（予定を含む）

本研究課題の成果及び進捗は毎年の国内・国際学会にて発表し、積極的に他方からの意見を取り入れていく。また、申請者の所属する国立研究開発法人 理化学研究所ではプレスリリースなどを通して研究成果を国内外に広く周知する環境が整っている。