

1. スクラップ化した記憶はどこへ

奥山輝大

脳は「記憶する」という高次機能をもつ一方、柔軟に世界の変化に対応するため、同時に「忘れる」という機能を有している。本稿では、「スクラップ化した記憶はどこへ」と題して、シナプス・ニューロン・神経回路という多階層から、さまざまな忘却状態の神経メカニズムについて論じる。また、近年、記憶形成時に活動したニューロン集団のみを遺伝学的に修飾することが可能になり、記憶痕跡（エングラム）の所在が議論できるようになってきた。本稿では、記憶痕跡研究を俯瞰したうえで、記憶痕跡という観点で「忘れる」という状態について論じたい。

はじめに一図書館の中から一冊の本を探す

他の神経回路の再編と同様、記憶も「スクラップ&ビルド」をくり返すことで、われわれは柔軟に世界の変化へ対応することができる。さて、それでは記憶がスクラップとなり、その記憶を「思い出せない」とはどういう状態なのだろうか。われわれのもつそれぞれの記憶を「一冊ずつの本」、記憶を貯蔵する脳そのものを「図書館」として捉えてみよう。「記憶を思い出す」とは、その広い図書館の中から目的の一冊の本を探し出す作業だと言い換えることができる。しかし、どんなに探しても本が見つからないこともある。小さな区立図書館で誰かがすでに失くしてしまった本が見つからないときも、500万冊の書籍を収蔵するダブリン大学トリニティ・カレッジの迷宮図書館の中で、目当ての本を求めて何時間も彷徨うときも、われわれは同じく目的の本へと辿り着くことができない。すなわち、記憶そのものが脳から失われているのか、あるいは、

記憶はそこに依然存在しているにもかかわらずアクセスできないだけなのかを、われわれは自身の感覚のみで区別することはできず、いずれも「忘れた」と捉えているのである。しかしながら、近年、光遺伝学を用いて、特定の記憶を保持するニューロンそのものの活動を制御することにより、この両者を行動神経科学的に区別することが可能になってきた。本稿では、近年の記憶痕跡研究を俯瞰しつつ、記憶のスクラップ化に焦点を当てたい。

1 記憶はどこに貯蔵されているのか？

カナダの脳外科のWilder Penfieldは^{てんかん}癲癇患者の治療のために、患者の側頭葉の外科的な切除手術を執刀していたが、その開頭手術中に、露出した脳の表面に弱い電流を流し電氣的に刺激したところ、患者はピアノ伴奏を伴うオーケストラの旋律やかつて勤務していた事務所の光景などの「記憶」が人工的に想起されるという現象を発見した。すなわち、Penfieldが刺激し

Where is the scrapped memory ?

Teruhiro Okuyama : Institute for Quantitative Biosciences, The University of Tokyo (東京大学定量生命科学研究所)

た神経細胞、あるいは回路には、過去の記憶情報が蓄えられていたと解釈することができる。「記憶はどこに貯蔵されているのか？」という問いは非常に根源的であり興味深く、この脳が保持する「記憶の痕跡」は、Richard Semonによってエングラム (engram) と名付けられた。Semonは、エングラムを、刺激に伴いつくられる永続的な潜在変化と定義した。さらに近年、神経科学の立場からエングラムの定義は更新された。エングラムは、記憶情報を保持している特定のニューロン集団において、記憶形成に伴って「物理化学的な持続的な変化」が生じることによって形成され、ある適切な記憶想起の状況において、そのニューロン集団が再興奮し、エングラムが再活性化した結果、記憶想起がもたらされると考えられている^{1)~3)}。過去の記憶が暗号化され貯蔵されているニューロン、さらに拡張するならば、その神経回路ネットワークこそを記憶痕跡と捉え、前述の問いは「記憶痕跡の探索」と姿を換え、近年のニューロサイエンスのホットトピックの1つとなってきた。

2 記憶痕跡そのものを操作する

齧歯類においては定型化した記憶学習テストによって、記憶を定量することができる。主に用いられるのは、恐怖刺激である電気ショックとコンテキスト (箱) とを連合させる恐怖文脈条件づけ課題、あるいは、電気ショックと音とを連合させる恐怖音条件づけ課題である。恐怖文脈条件づけ課題において、コンテキストAで恐怖記憶が形成されたテストマウスは、記憶形成24時間後に同じコンテキストAに入れられると、すくみ行動 (freezing) を示す一方、異なるコンテキストBでは示さない。このすくみ行動を示している時間を定量することにより、記憶の程度をアッセイすることができる。これら一連の行動テストと数々の優れた遺伝学的手法を駆使することで、記憶痕跡の実態が近年解き明かされつつあるが、ここではその土台をつくったとも言える3つのマイルストーン的研究を紹介したい。

1つ目は、Mark Mayfordらによる、神経活動依存性な遺伝学的細胞標識手法の開発である⁴⁾。具体的には、神経興奮によって発現上昇する初期応答遺伝子 c-fos のプロモーターを用いて、下流につないだ機能タ

ンパク質の発現を誘導し、さらに、誘導時期を絞るための Tet-OFF システムを組合わせている。その結果、ドキシサイクリン (Dox) 非存在下で、活性化したニューロンのみが機能タンパク質で標識される、すなわち「特定の時期に特定の刺激に対して興奮したニューロン集団を標識できる」という遺伝学的トリックとなっている。この手法を用いて、記憶形成時に興奮したニューロン集団を特異的に標識することが可能になった。「記憶」という現象の本質であり、また記憶研究の難しさとは、脳が多様な情報を表現するため、均質な媒体 (均質なニューロン集団) に、異質な情報 (それぞれの異なる記憶) が組込まれている点である。Penfield が「オーケストラの旋律」の記憶を担うニューロンだけを狙って電気刺激できないように、特定の記憶を保持するニューロンを脳内のニューロンの海の中から見つけ出すことはきわめて難しい。Mayford の手法が画期的だったのは、「記憶形成時に活動したニューロン集団」という切り口で、記憶痕跡を保持するであろうニューロンへ集団の遺伝学的アプローチを可能にした点であった。

2つ目は、Sheena Josselyn らによる記憶痕跡ニューロン集団の特異的な細胞死誘導実験である⁵⁾。Josselyn らのグループは、音と電気ショックを連合させる恐怖音条件づけ課題において、扁桃体外側核の CREB 発現ニューロンを特異的にジフテリア毒素受容体で標識した。記憶形成後、コントロール群では音刺激によってすくみ行動が誘導される一方、ジフテリア毒素を注入し、CREB 発現ニューロンの細胞死を誘導した群では、その記憶が喪失することが明らかになった。これは、記憶痕跡がニューロン集団レベルで保持されていることを示すはじめての研究となった。

3つ目は、利根川進らによる、チャネルロドプシン 2 (ChR2) を用いた、記憶痕跡ニューロンの興奮誘導実験である (図3の手法参照)⁶⁾。Mayford らによる c-fos:tTA マウス系統の海馬歯状回に、TRE-ChR2 を発現するアデノ随伴ウイルス (AAV) を顕微注入し、光遺伝学的に「恐怖記憶形成時に活動したニューロン集団」のみを後で人為的に再興奮させた。その結果、マウスは恐怖記憶とは関係ないコンテキスト内においても、すくみ行動を示した。「必要性」を議論した Josselyn の研究と対照的に、利根川らの研究は、光刺

激により元の恐怖記憶が想起されたと解釈することができ、記憶形成時に興奮した海馬歯状回のニューロン集団が記憶痕跡を有する「十分性」を示している。

3 「思い出せない」を紐解く

われわれの記憶は、何かを経験した直後に、一過的で不安定な「短期記憶」として記憶を貯蔵し、その記憶が固定化することにより、長期にわたって保存される「長期記憶」の状態へと推移する。その細胞内メカニズムへと目を向けると、確かにシナプス可塑性も経時的な多段階の分子メカニズムによって制御されている。長期増強 (LTP)^{※1}の初期段階ではE-LTPとよばれる、タンパク質合成を伴わないLTPがみられる⁷⁾。神経興奮によりシナプス後膜側で、NMDA型グルタミン酸受容体依存的な細胞内Ca²⁺濃度上昇が生じ、CaMK IIやPKCといったキナーゼの活性化を介し、AMPA型グルタミン酸受容体のシナプス後膜上への輸送が促され、シナプス強度の変化が生じる。続いて、後期段階ではL-LTPとよばれる、CREBの活性化を伴うタンパク質合成を必要とするLTPが観察され、記憶の固定化のためのさらなるAMPA型グルタミン酸受容体の発現誘導などが生じる。したがって、タンパク質合成阻害薬であるアニソマイシンの投与により、タンパク質合成を必要とするL-LTPが阻害され、記憶は長期化せず、記憶形成の24時間後には逆行性健忘状態となる。利根川らは、このアニソマイシン誘導性の健忘状態のマウスで、前述の記憶痕跡ニューロンの光遺伝学手法による再興奮を行ったところ、記憶想起が誘導できることを明らかにした⁸⁾。すなわち、記憶を自然に思い出すことができない状況でも、「記憶そのものは海馬に保存されている」ことを意味している。

4 「もの忘れ」という病態

アルツハイマー病は、神経細胞死を伴って認知・記憶機能が低下する神経変性疾患であるが、細胞死を引

き起こす前の初期症状では、エピソード記憶の障害、いわゆる「もの忘れ」に限定される。この健忘症状は、記憶の形成・固定化・想起のどの段階が障害された結果生じたのだろうか？そこで、アルツハイマーモデルマウスを用いて、前述の記憶痕跡ニューロン集団を特異的に光遺伝学手法によって再興奮させたところ、初期アルツハイマー段階では記憶想起が可能であることが明らかになった⁹⁾。すなわち、タンパク質合成阻害薬による健忘状態と同様に、「記憶そのものは海馬に保存されている」ことを意味する。しかし、この光刺激による記憶の回復は一過的であり、その後再度テストしても自然状態での記憶想起はできない。さらに、海馬歯状回の上流に位置する嗅内皮質の記憶痕跡ニューロンを活性化することで、歯状回の記憶痕跡ニューロンは有意に興奮誘導される。これらを併せると、記憶痕跡ニューロンの光遺伝学的活性化により記憶想起が誘導されるという事実は、「健忘状態であったとしても、ニューロン間のつながり (connectivity) 自体は維持されている」ことを示唆するものであった (図1)^{9) 10)}。

それでは、「つながりが維持」されているにもかかわらず、細胞メカニズムのいずれの過程が障害されたことで、自然な記憶想起が阻害されているのであろうか。海馬歯状回の記憶痕跡ニューロンのスパイン密度の低下が低下している点から「つながりの強度」が減じている可能性が考えられたため、嗅内皮質の記憶痕跡ニューロンをoChIEFタンパク質^{※2}により高頻度光刺激し、光遺伝学による「人為的なLTP誘導¹¹⁾」を検証した。その結果、アルツハイマーモデルマウスにおいて、記憶痕跡ニューロンのスパイン密度が回復し、また、光刺激を行わない自然条件下においても記憶想起の有意な回復がみられた。薬理学的手法で誘導した健忘モデルと、アルツハイマーの病態による健忘モデルのいずれも、健忘という状態を考えたとき、記憶痕跡ニューロンの「つながり」そのものと、その「つなが

※1 長期増強 (LTP)

同時刺激された神経細胞間で、シナプス伝達強度が増加することにより、信号伝達性が持続的に亢進する現象のこと。

※2 oChIEFタンパク質

人工的に変異を導入したチャネルロドプシンの1つ。脱感作を小さくできるかという視点をもって開発され、50~100 Hzという非常に高頻度の神経興奮誘導を可能にした。近年、100 Hzの光遺伝学刺激でLTPが、1 Hzの刺激で長期抑圧 (LTD) が人為的に誘導できることが示され¹¹⁾、その高頻度刺激実験でoChIEFタンパク質が用いられた。

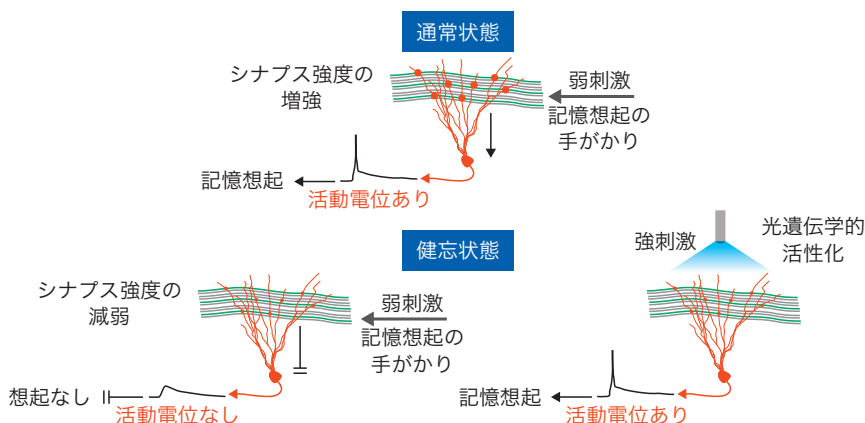


図1 通常状態と健忘状態における、ニューロン間のつながりとその強度
文献10を元に作成。

りの強度」とを分けて議論する必要性を示唆する。

5 生得的に弱い記憶：社会性記憶

さて、ここまで脳の異常状態である「健忘モデル」に焦点を当て、記憶痕跡の有無を論じてきた。一方、われわれの生活のなかでは、多くの物事や日々の出来事は「自然に」忘れられていく。そのような自然条件下で発生する「思い出せない」という状態において、記憶痕跡は海馬内でどうふるまっているのであろうか。齧歯類は空間に対してきわめて屈強な記憶能力を有する一方、同種他個体についての記憶、すなわち「社会性記憶 (social memory)」は脆弱であり、生得的に記憶形成後2～3時間程度で失われていく¹²⁾。本稿の後半では、筆者がこれまで取り組んできた社会性記憶を題材として、「思い出せない」という現象の神経メカニズムについて論じたい。

エピソード記憶を構成する要素のなかで、社会性記憶は「誰 (Who)」という情報に相当する。これまで場所 (Where)、物 (What)、時間 (When) の海馬内での情報表現が精力的に研究されてきた一方、この「誰 (Who)」の神経メカニズムは不明な点が非常に多かった。有名なH.M.氏をはじめとして、ヒトの海馬損傷患者の臨床事例や、マウスやラットなどの齧歯類を用いた海馬除去実験は、社会性記憶も空間記憶などの他要素と同様に、海馬に貯蔵されることを示唆してい

た^{13)～15)}。例えば、H.M.氏の場合では、海馬損傷前の1920年代から1930年代の友人の顔を記憶できている一方、損傷後の1950年代に友人の顔についての記憶パフォーマンスが有意に低いことが報告されている¹⁴⁾。また、海馬損傷患者の顔記憶能力を調べた別の研究では、顔を見た直後では記憶が鮮明な一方、その24時間後にテストすると顔の記憶想起が障害されることがわかっていく¹³⁾。すなわち、海馬はヒトの顔認識そのものには関与しない一方で、その情報の蓄積には必要なのである。実際、ヒトの癲癇患者の内側側頭葉を標的とした電気生理学的実験の結果、海馬や嗅内皮質の中にはスター・ウォーズの登場人物であるルーク・スカイウォーカーや、バットウーマンを演じているハル・ベリーを被験者が見ているときに特異的に活動する細胞が存在することがわかっており、それらを総称して女優ジェニファー・アニストンに対応するニューロンもわれわれの脳にあるに違いないということから「ジェニファー・アニストン細胞」と名付けられている^{16) 17)}。それでは、このジェニファー・アニストン細胞とは、具体的にはどの脳領域のどのようなニューロンで、どのような生理学的な特徴を有しているのであろうか。

6 ジェニファー・アニストン細胞はどこにいるのか？

ラットを用いた電気生理学的実験によって、背側

CA1 (dCA1) 領域にはそれぞれの個体に対して特異的に反応するニューロンが存在しない、言い換えれば、ジェニファー・アニストン細胞様な機能をもつニューロンが検出されないことが報告されていた¹⁸⁾。そこで、われわれは「腹側 CA1 (vCA1) ニューロンこそが社会性記憶の記憶痕跡を有しているのではないか？」という作業仮説を立てて研究を開始した。

マウスやラットには、未知個体と比較して既知個体との接触時間が短くなる生得的性質があり、接触時間減少の程度を調べることによって、社会性記憶を定量することができる^{12) 19)}。そこでまず、光刺激依存的に神経興奮を阻害できる光遺伝学タンパク質 eArchT を vCA1 に発現させ、社会性記憶の想起時に興奮阻害を行ったところ、社会性記憶の記憶想起時、あるいは、記憶形成時のいずれの阻害においても、記憶想起が障害されることが明らかになった²⁰⁾。一方で、dCA1 の特異的な興奮阻害は、社会性記憶の想起に影響を与えなかった。以上の点は、vCA1 ニューロンが社会性記憶に強く関与するという仮説を強く支持していた。

それでは、社会性記憶は vCA1 ニューロンにおいて、どのようにコードされているのだろうか？ また、それぞれの個体に対して特異的に反応するようなジェニファー・アニストン細胞は vCA1 領域に存在するのだろうか？ この疑問にアプローチするために微小脳内内視鏡 (マイクロエンドスコープ) を用いて、社会性行動中の vCA1 ニューロンの神経活動を記録した。微小脳内内視鏡とは、2 グラム程度の非常に軽量の LED 内蔵カメラシステムであり、自由行動下のマウスにおいて Ca^{2+} イメージングを可能にする²¹⁾。すると、ある特定のマウス A に対しての社会性記憶を形成させることにより、テストマウスの vCA1 に存在する 10 % 前後の錐体ニューロンは「テストマウスがマウス A に接近したとき」特異的に有意な興奮を示すことがわかってきた。このようなニューロンは、電気生理学的手法を用いた先行研究と同様に、dCA1 領域からは検出されなかった。このような vCA1 ニューロンを「マウス A ニューロン」と定義すると、マウス A ニューロン集団は、テストマウスがマウス A に遭遇したときに有意に再興奮しやすいことも示された。これらの結果は、vCA1 の錐体ニューロンが「ニューロン集団」として、マウス A についての社会性記憶という情報をコードし

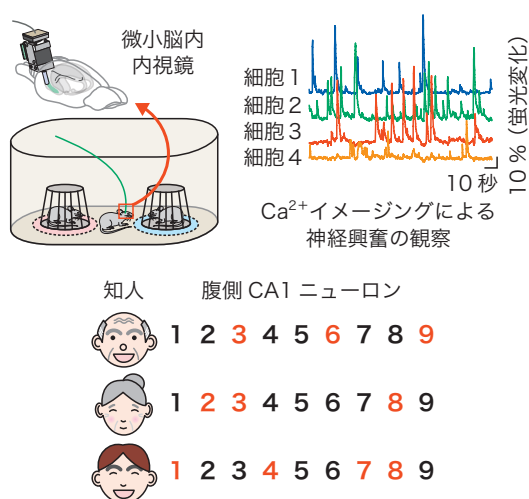


図2 「ニューロン集団」による社会性記憶の保持

ていることを示唆する。例えば、仮想的に vCA1 領域が 1 ~ 10 番までのニューロンで構成されているとすると、マウス A を思い出しているときには 3 番、6 番、9 番が興奮し、マウス B を思い出しているときには 2 番、3 番、8 番が興奮するといった具合である (図 2)^{20) 22)}。

非常に興味深かったのは、マウス A についての記憶形成後 24 時間隔離し、マウス A を「忘れてしまった」後に、再度 Ca^{2+} イメージング法でマウス A ニューロンの神経興奮を調べたところ、マウス A ニューロンの神経興奮の程度が低くなる一方で、いまだマウス A に対しての選択的反応性が残っていた点であった。すなわち、これまで社会性記憶はすばやく減衰すると考えられてきたが、実際には、その記憶痕跡は、記憶が行動レベルで検出できなくなった後だとしても、神経活動のレベルでは vCA1 に残存していることを意味していた。そこで前述の遺伝学的トリックを用いて、「マウス A についての社会性記憶を形成したときに興奮したニューロン集団」を再度、光遺伝学的に再興奮させたところ、記憶形成後 24 時間経過した後だったとしても、社会性記憶の想起が可能だということがわかった。つまり、「自然に」忘れていた状態だったとしても、同様に記憶痕跡そのものはいまだそこに存在していることを意味していた²⁰⁾。

さらに、そのマウス A ニューロン集団を人為的に興奮させながら、電気ショックによる恐怖刺激、あるい

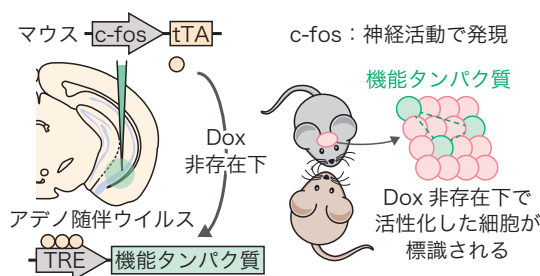


図3 記憶痕跡ニューロン特異的な遺伝学的標識

は、コカイン注入による快楽刺激を与えると、マウスAニューロンの社会性記憶と負、あるいは、正の感情情報が人為的に連合され（過誤記憶の挿入）、テストマウスはマウスAに対して特異的に忌避行動や接近行動を示すようになった（図3）。以上の実験結果は、確かにvCA1領域の「ニューロン集団」が、マウスAについての社会性記憶を表現するのに十分な情報を保持していることを示している。

おわりに

記憶とは非常に「概念的」な高次機能である。正確さと柔軟さを兼ね備え、時にその柔軟さは「忘れる」という形で表出する。本稿ではさまざまな種の忘却を題材として、記憶痕跡の有無を論じた。記憶そのものは依然脳に格納されているにもかかわらず、それがベールで覆われている様は、あたかも、カズオ・イシグロの「忘れられた巨人」の「忘却の霧」のようですらある。利根川らは、この自然状態では想起できないにもかかわらず、光遺伝学による強力な興奮誘導ならば記憶想起が可能な状態を、「静かな記憶痕跡（Silent Engram）」と名付けている²³⁾。近年のニューロサイエンスは、Hebb 則にはじまるニューロン間の情報伝達を足場に、徐々にニューロン集団のコードする情報、集団から集団への情報伝達の機構解明へと足を進めつ

つある。本稿で、記憶という情報をコードするニューロン集団としての、「スクラップ&ビルド」研究の現在を実感していただければ幸甚である。

文献

- 1) Tonegawa S, et al : Neuron, 87 : 918-931, 2015
- 2) Josselyn SA, et al : Nat Rev Neurosci, 16 : 521-534, 2015
- 3) Poo MM, et al : BMC Biol, 14 : 40, 2016
- 4) Reijmers LG, et al : Science, 317 : 1230-1233, 2007
- 5) Han JH, et al : Science, 323 : 1492-1496, 2009
- 6) Liu X, et al : Nature, 484 : 381-385, 2012
- 7) Sweatt JD : Learn Mem, 6 : 399-416, 1999
- 8) Ryan TJ, et al : Science, 348 : 1007-1013, 2015
- 9) Roy DS, et al : Nature, 531 : 508-512, 2016
- 10) Tonegawa S, et al : Curr Opin Neurobiol, 35 : 101-109, 2015
- 11) Nabavi S, et al : Nature, 511 : 348-352, 2014
- 12) Bluthé RM, et al : Psychoneuroendocrinology, 18 : 323-335, 1993
- 13) Smith CN, et al : Proc Natl Acad Sci U S A, 111 : 9935-9940, 2014
- 14) Corkin S : Nat Rev Neurosci, 3 : 153-160, 2002
- 15) Kogan JH, et al : Hippocampus, 10 : 47-56, 2000
- 16) Quiroga RQ, et al : Nature, 435 : 1102-1107, 2005
- 17) Quiroga RQ : Nat Rev Neurosci, 13 : 587-597, 2012
- 18) von Heimendahl M, et al : J Neurosci, 32 : 2129-2141, 2012
- 19) Thor DH & Holloway WR : J Comp Physiol Psychol, 96 : 1000-1006, 1982
- 20) Okuyama T, et al : Science, 353 : 1536-1541, 2016
- 21) Ziv Y, et al : Nat Neurosci, 16 : 264-266, 2013
- 22) Okuyama T : Neurosci Res, 129 : 17-23, 2018
- 23) Roy DS, et al : Proc Natl Acad Sci U S A, 114 : E9972-E9979, 2017

＜著者プロフィール＞

奥山輝大：2006年、東京大学理学部生物学科卒業。'11年、東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻にて博士（理学）を取得。マサチューセッツ工科大学ピカワー学習記憶研究所博士研究員を経て、'17年より東京大学分子細胞生物科学研究所准教授。'18年4月より、東京大学定量生命科学研究所准教授（現職）。社会性記憶が脳内でどのように形成され、どのように行動出力に至るのかという神経メカニズムを研究している。趣味は、釣りと肴料理と日本酒。