

研究課題別 中間評価結果

1. 研究課題名： 記憶の脳内表現と長期定着のメカニズム

2. 研究代表者： 重本 隆一（自然科学研究機構 生理学研究所 教授）

3. 研究概要

本研究は、記憶の脳内表現と記憶が長期にわたって定着するメカニズムの解明に焦点を絞っている。従来、*in vivo*の脳で起こっている現象について神経要素を同定して捉えるまでには至っておらず、個々の分子の動態や機能が脳のシステムレベルでどのように表現され、その結果記憶が長期定着するのかはほとんど分かっていない。

本研究の基本コンセプトは「3つのi」、すなわち、

1) *in vivo*における現象の解明、

2) 神経要素の同定 (identification)、

3) 個々の神経要素で捉えた現象や機能分子の動態を統合して個体の行動の理解に結びつけること (integration) である。

受容体・イオンチャネル・シナプス動態の定量的かつ包括的な解析および行動との相関を検討し、記憶の形成や長期的定着を起こすメカニズムを明らかにすることを目指している。

まず小脳において運動学習の脳内表現と記憶長期定着のメカニズムを明らかにすることが第一の目的である。小脳皮質のシナプス伝達可塑性では、長期抑圧(LTD)が運動学習の原因であるという仮説が提唱されている。我々はマウスの眼球反射を用いて長期運動学習と短期運動学習を定量評価出来る実験系を用い、短期運動学習が平行線維-プルキンエ細胞間シナプスにおけるAMPA(グルタミン酸受容体の一種)型グルタミン酸受容体の密度減少を伴っているのに対し、長期運動学習ではAMPA型受容体の密度は正常に戻り、シナプス自体の密度が減少することを見出した。また、長期運動学習成立後に小脳皮質の出力を可逆的に遮断したところ、短期運動学習の記憶は完全に消去されるのに対して、長期運動学習の記憶は影響を受けないことを見出した。さらに、長期記憶の痕跡が、小脳皮質の出力先である前庭核に形成されているという電気生理学的所見を得た。これらの知見は、まず短期の学習の記憶痕跡がLTDという形で小脳皮質に形成され、その後長期運動学習の成立の過程で、小脳皮質においてはシナプス減少により出力低下が固定化すると同時に、経シナプ的にプルキンエ細胞の出力先の前庭核に影響が及び、そこでも長期の記憶痕跡として発現することを示唆している。小脳皮質に形成された短期記憶の痕跡が、どのようにして、いつこれらの長期定着を引き起こすのか、現在そのメカニズムを遺伝子改変マウスなどを用いて実験的に検討している。

また、本研究は記憶の形成に必須であることが知られているNMDA(グルタミン酸受容体の一種)受容体局在の左右差の形成メカニズムと生理的意義を*in vivo*で解明することを目指している。

我々は、マウスの海馬において、NMDA 受容体 NR2B サブユニットが左右のシナプスで非対称な局在パターンをとっていることを発見した。この発見に続き、脳の左右差が生後 2 週で既に形成されていること、内臓の左右差がランダムになる iv 変異マウスにおいては、内臓の左右にかかわらず脳の NMDA 受容体局在が両側とも右側になることを発見した。これは、脳の非対称性が遺伝的に規定されていることを示すとともに、内臓とは異なるメカニズムで脳の非対称性が生じていることを示唆している。さらに NMDA 受容体のみならず、AMPA 受容体 GluR1 サブユニットについても NMDA 受容体 NR2B サブユニットとは反対の非対称性が生じていることを発見した。現在、脳の左右差に関与する遺伝子の解析を行うとともに、脳の左右差の生理的意義を明らかにするための行動実験を行っている。

また、海馬は空間学習に関与しているとされているが、実際に空間学習を行った動物において、受容体レベルでどのような変化が起こっているのかは明らかではなかった。我々は、まず長期増強現象(LTP)を引き起こすようなテタヌス刺激を *in vivo* で与えた後、シナプスの AMPA 受容体密度が確かに上昇することを凍結切断レプリカ免疫電子顕微鏡法で明らかにした。さらにこの時、AMPA 受容体 GluR1 サブユニットを持つシナプスの割合が上昇すること、および同様の変化が空間学習を行った動物においても認められることを明らかにした。今後はこのような受容体レベルの変化がシナプス形態に及ぼす影響を検討していく。

4. 中間評価結果

4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

記憶の長期定着メカニズムの解明に向けて、新規の発見も含め着実に進んでいる。記憶・学習におけるシナプス可塑性の *in vivo* での解析の研究に、定量的凍結切断レプリカ標識法 (SDS-FRL 法) 等の独自に開発した定量的分子形態法に、分子生物学、電気生理学、遺伝子改変動物、行動学などの多面的な方法を組み合わせることで、独創性の高い成果を出している。

運動、空間学習と受容体の分布、密度の変化等基礎的な知見の蓄積、NMDA 受容体サブユニットの海馬シナプスにおける左右非対称の検証等各研究グループは明確な実験結果を得ており、成果は上がっている。しかし、各グループの研究がどのように連携しており、得られた成果がどのように統合されていくのかが見えていない。

達成目標を絞り込み、各研究グループがこれまで以上に有機的な連携を行うことで、より独創性の高い研究成果が期待出来る。

4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

定量的 SDS-FRL 法等の独自に開発した方法を応用し、形態学と分子生物学を組み合わせることで、*in vivo* での記憶・学習の脳内表現と長期定着メカニズムの定量的な解明を進めており、科学的・技術的インパクトがかなり高い。

この研究は独自のもので類似研究は見あたらないため、他の研究との比較が出来ないが、研究のレベルは高い。小脳・海馬を用いた運動、空間学習の機構の研究は手法の独創性が高く、ま

た脳の左右差に関する研究はテーマが極めて独創的である。世界的に研究があまり進んでいない未開拓の分野であるため、今後の新しい展開が期待出来る。論文はそれ程多くはないが質は高く、今回の評価会で発表されたデータはほとんどが未発表のもので、今後国際的な専門誌に発表されることが期待される。SORSTにおける特許出願については、これまでのところ無いが、今後期待したい。

4-3. 総合的評価

記憶・学習を、形態学の知見を用いて分子レベルで定量的に解明する研究は国際的にも独創性が高い。記憶の長期定着という古くからの重要なテーマに挑戦し、GluR1とNR2Bの非対称性等興味深い発見があり、今後の研究の展開に期待したい。

各研究グループは各々独自の成果を挙げたと思われるが、研究グループの再編成をすることによって費用対効果の優れた体制にするべきであり、全体として目指す方向や達成すべき目標をさらに具体的に設定することが望まれる。