

## 記憶障害の脳内機構の解明と回路修復の可能性

獨協医科大学 先端医科学統合研究施設  
先端医科学研究センター 認知・記憶研究部門  
大川 宜昭

### 研究の目的

我々は日々新しい経験の記憶を積み重ねているが、このような経験の記憶はエピソード記憶と呼ばれ、脳の海馬がその形成に重要であるといわれている。エピソード記憶は経験時の時間や環境の情報である文脈情報によって構成されるが、この文脈情報には数多くの感覚情報が含まれている。しかしながら、海馬がどのように文脈情報を構成する感覚情報を表現し、さらに記憶という認知情報として統合するのかは明らかになっていない。また、海馬は脳の両側にあるが、記憶形成における両側海馬の関連性は不明である。

一方、高齢化の進展により、2025年には日本の65歳以上の5人に1人が認知症になると見込まれている（平成28年版高齢社会白書）。その中で、認知症や軽度認知障害（MCI）の中核症状の1つが日々の記憶の障害であることから、脳の記憶情報処理の基本原理の解明は、喫緊の課題であるMCIの早期診断の新たなコンセプトを提唱する可能性を秘めている。さらに、老化やアルツハイマー型認知症（AD）の患者における、感覚機能の低下や、ADモデルマウスでの皮質-海馬間の活動連関の異常と記憶障害との関連も示唆されている。

このような背景から、多様な感覚情報が提示された際の両側海馬の活動性の検討は、脳の認知・記憶情報処理の原理を明らかにする上で重要であると考えられるが、この実現のためには覚醒下のマウスの海馬から神経細胞集団の活動を観察することが必要となる。これまで、多数の神経細胞の個々の神経活動の観察は、テトロード電極やシリコンプローブを用いたマルチニューロン記録に加えて、神経細胞が活動した際に細胞内へ流入するCa<sup>2+</sup>の濃度をCa<sup>2+</sup>指示タンパク質が発する蛍光強度に変換し測定する、Ca<sup>2+</sup>イメージング法が用いられてきた。その中で、屈折率分布型レンズ（Gradient Index lens, GRINレンズ）を内視鏡として用いる1光子励起顕微鏡による脳深部蛍光イメージング法が報告され、GRINレンズを通し頭蓋の外に投影された脳内の蛍光像を取得するシステムとして、「極微細蛍光内視鏡イメージングシステム（Ultra-thin Fluorescence Endoscope Imaging System, U-FEIS）」が構築された。U-FEISは、極微細光ファイバーを束化したイメージングファイバー {有効径：～350 μm, 画素数（極微細ファイバー数）：6,000以上} と光学システムから構成されており、複数のイメージングファイバーをマウスの頭蓋上に並べることで、これまでの生体脳内蛍光イメージングシステムでは困難とされた複数脳領域からの同時イメージングが可能と想定された。

以上から本研究では、複数脳領域を対象とした脳内イメージングに利点を持つと想定されたU-FEISの*in vivo* Ca<sup>2+</sup>イメージングへの実装を図り、多様な感覚情報入力に対する両側海馬の神経細胞集団活動の様式の解明を目的とした。得られる知見を踏まえ、エピソード記憶を構成する多様な感覚情報を表現する皮質-海馬間を含む脳回路システムの解明と記憶障害におけるその異常の理解に繋げることで、高齢化社会を迎えた日本の社会的課題である、認知症における記憶障害の理解と改善策の提案を目標としている。

### 研究の方法と成果

#### 複数領域イメージング

U-FEISの光学系を改良することで、現在までに3本のイメージングファイバーによる3領域同時イメージングを可能とした（**図1**、CCDカメラの視野サイズ中に3本のファイバーからのイメージを検出できる様子）。本研究では、複数の感覚情報入力に対する両側海馬における細胞集団の応答計測のため、脳の広域の神経細胞にCa<sup>2+</sup>指示タンパク質G-CaMP7を発現するThy1-G-CaMP7マウスの両側海馬CA1へGRINレンズを設置した。これにより、これまで困難とされた複数の脳領域の同時Ca<sup>2+</sup>イメージング法と取得データの画像解析法が確立し、安定して多数の神経細胞の活動計測データを複数の脳領域から得ることができるシステムの構築に成功した（**図2**）。

#### 感覚刺激提示条件下での両側 CA1神経細胞の応答性

感覚情報入力に対する海馬CA1神経細胞の応答計測を行うため、イメージング中に、音、光、風、匂いの4種類の感覚刺激を提示した。各感覚刺激の提示の条件は、

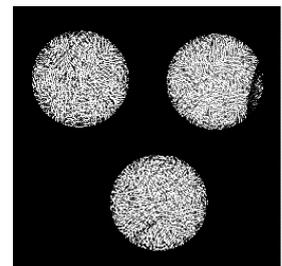


図 1

以下の様に設定し、刺激1回あたりの提示時間は 3.0 秒間とした。

音刺激・・・ホワイトノイズ  
 光刺激・・・緑色LED（左右の眼付近で10 Hz周期で点滅）  
 風刺激・・・左右のヒゲに向け流量2.0 L/minで噴射  
 匂い刺激・・・鼻に流量 1.0 L/min（ベンズアルデヒド（10 %希釈）を30  $\mu$ l 染み込ませたフィルターを匂い経路に設置）  
 イメージングセッション中に各感覚刺激を5回ずつ提示した。刺激提示の間隔は10～20秒の間でランダムに選択されることになっており、刺激提示の順番は擬似ランダムになるよう設定した。

抽出された各細胞の時系列蛍光シグナルデータをZ scoreに変換し、各感覚刺激の開始もしくは終了直後の応答の大きさを細胞を並び替えた（図3, 音刺激の例）。これにより、両側CA1にはともに音刺激入力に反応して活動する細胞（以下 on細胞）（図3A）や音刺激入力の終了に反応して活動する細胞（以下 off細胞）（図3B）、また、音刺激の間に活動が低下する細胞（以下 silent 細胞）（図3C）が存在することが明らかとなった。on細胞、off細胞、silent 細胞の全細胞中の出現率は、音刺激、光刺激、風刺激、匂い刺激間でほとんど差が無く、CA1の左右差も見られなかった。

一方、4種類の感覚刺激が提示されることから、同じ細胞の複数感覚刺激に対する応答性を検討したところ、イメージング中に活動し抽出された全細胞の中に、複数の感覚刺激に反応する細胞が左右のCA1でともに存在することが明らかとなった（図4）。これらの複数の感覚情報を表現できる細胞が存在することは、多感覚情報を統合する必要があるエピソード記憶形成に不可欠な海馬にとって有利な機構であると想定される。

### 今後の展望

小説『失われた時を求めて』では、紅茶に浸したマドレーヌの味覚から、語り手に幼少時代のあざやかな記憶が蘇り物語が展開する。このように、新奇な経験中に知覚された多様な感覚情報が文脈情報を構成し、その中から記憶の構成要素となる文脈情報が選別・統合されることによって、1枚の写真のようなエピソードの記憶が構築され、脳の海馬を中心に符号化される。しかし、皮質の感覚野から伝達される複数の感覚情報が、海馬を含む記憶を司る脳ネットワークにおいてどのように統合され、1つのエピソード記憶を構築するのか、その情報処理の過程は明らかにされていない。本研究によって、1つの経験の中で提示された個別の感覚刺激のみならず、全ての刺激に対し応答性を示す細胞が海馬に存在することが明らかになった。どのような神経回路でのプロセスを経て、このような一細胞での多感覚情報表現が可能になるのか、また、これらの複数のモダリティー情報を表現できる細胞が実際にエピソード記憶の符号化に寄与しているのかについて、今後検討を進める予定である。

また、このような複数のモダリティー情報の統合不全が、認知症などの記憶障害の一因となっている可能性が示唆されている。我々は、認知機能障害における複数感覚刺激に対する海馬神経細胞の応答性を検討するため、ADモデルマウスでも両側海馬の同時Ca<sup>2+</sup>イメージングを進めており、セッション中に活動する細胞総数に差はないもののADモデルマウスではコントロールマウスと比べ感覚情報に反応できる細胞の割合が低下している傾向を示すデータを得ている。今後のさらなる解析で、通常マウスと認知症モデルマウスの間で、特筆すべき相違が見

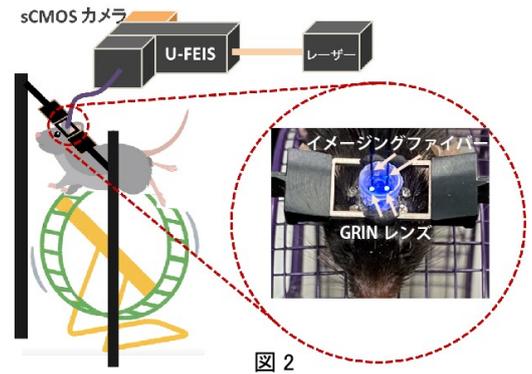


図 2

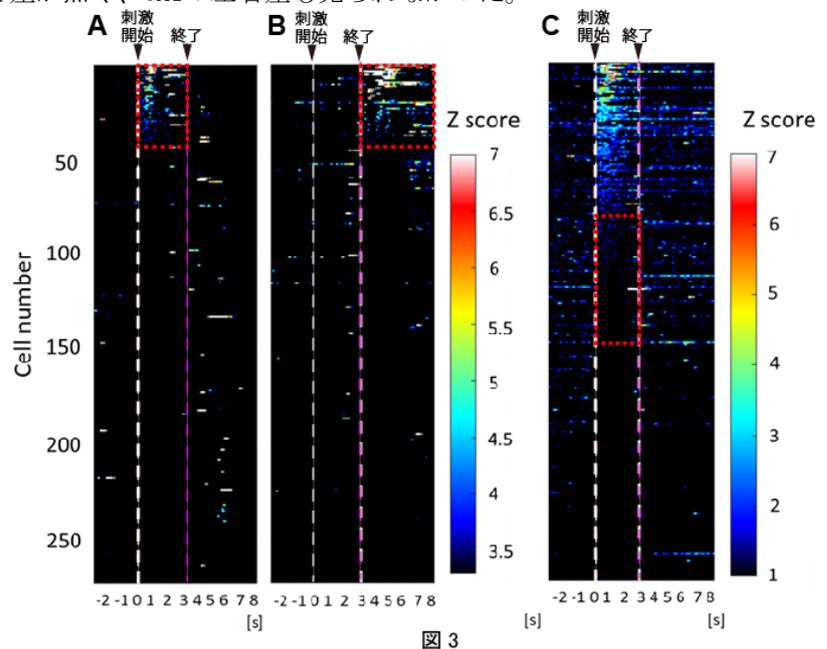


図 3

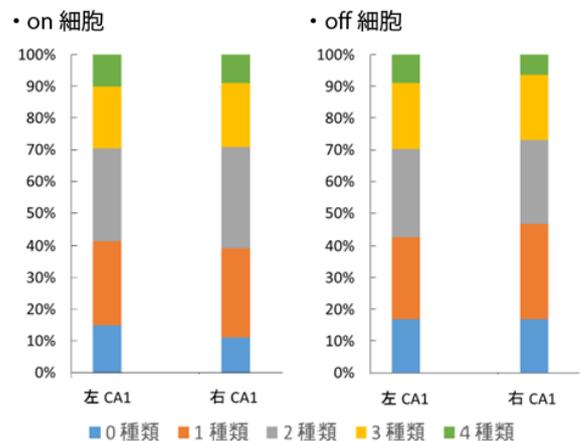


図 4

出されれば、新たな認知症診断法の提唱に繋がるのが想定される。さらに、このような多感覚情報の検出・統合の不全の原因となる回路の同定と介入によって、認知症における感覚機能と記憶障害との関連や治療の可能性を提案できるものと考えられる。

本研究で構築した多点脳領域イメージング技術は、脳機能と連関する脳内の広域活動の解明を可能とする。このことから、認知症のみならず、様々な病態モデル動物や行動を司る脳の広域回路への本技術の適用が、脳機能障害や行動の神経基盤を支えるコンセプトの発見に寄与することを期待している。

最後に、本研究の実施の機会とご支援を賜りました、アステラス病態代謝研究会と関係者の皆様に厚く御礼申し上げます。

## 論文発表等

### 原著論文

1. Setogawa S, Kanda R, Tada S, Hikima T, Saitoh Y, Ishikawa M, Nakada S, Seki F, Hikishima K, Matsumoto H, Mizuseki K, Fukayama O, Osanai M, Sekiguchi H, Ohkawa N\*. A novel micro-ECoG recording method for recording multisensory neural activity from the parietal to temporal cortices in mice, *Molecular Brain*, In press
2. Arime Y, Saitoh Y, Ishikawa M, Kamiyoshihara C, Uchida Y, Fujii K, Takao K, Akiyama K, Ohkawa N\*. Activation of prefrontal parvalbumin interneurons ameliorates treatment-resistant working memory deficit even under continuous antipsychotic treatment in a mouse model of schizophrenia, *bioRxiv*, DOI: 10.1101/2023.02.27.530344

### 総説

1. 大川 宜昭. 5章 記憶痕跡細胞による記憶の脳内表現, クバプロ, *ブレインサイエンス・レビュー 2022*, 編集: 廣川 信隆・板東 武彦, 93-113 (2022).
2. Ohkawa N\*, Ghandour K. Miniature Microscopy of Hippocampal CA1 To Identify Engram Cells and Record Calcium Transients for Analyses of Ensemble Activities, Springer, *Behavioral Neurogenetics (Neuromethods / Book series)*, Ed: Daisuke Yamamoto (2022). 181: 157-174 (2022). DOI: 10.1007/978-1-0716-2321-3\_10