

## 論文の内容の要旨

論文題目 加齢性長期記憶障害は記憶の汎化によって起こる

(Age-related long term memory impairment is caused by memory generalization)

氏 名 上村 望

### 1. 背景

長期記憶は行動を支配し、人格や個性表出の基盤となる重要な脳機能である。ショウジョウバエ（以下ハエ）は匂いと電気刺激による連合学習（嫌悪性匂い条件付け）が可能なモデル生物である。電気刺激と連合させる匂い（CS+）と連合しない匂い（CS-）を、間隔を空けて繰り返し学習（長期記憶学習）すると、学習後も一週間保持される嫌悪性匂い長期記憶が記憶中枢であるキノコ体の神経細胞にコードされる。長期記憶学習24時間後にCS+とCS-を選択する記憶テストを行うと、若齢体のほとんどがCS+を避けてCS-を選択する。これに対して加齢体はCS-ばかりではなく、CS+も選択するようになる。しかしながら、この長期記憶障害の分子神経メカニズムはよく分かっていない。哺乳類を用いた加齢体の研究は加齢に長期的な計画が必要だが、ハエの加齢は約20日と短く加齢研究に適したモデル生物である。この利点を生かして加齢個体の長期記憶低下の原因を詳細に探索できる。長期記憶行動の発現には、記憶形成だけでなく、その後の適切な保持、想起が必要である。したがって、加齢性長期記憶障害の実体を明らかにするためには、長期記憶形成だけでなく、形成された記憶情報の保持、想起の各過程についても検証する必要がある。長期記憶情報は長期記憶学習で活性化され可塑的变化を起こした記憶痕跡細胞の神経ネットワークにコードされ、記憶痕跡細胞間のシナプス伝達が増強される。記憶想起時には手掛かりとなる情報の提示（ここではCS+の匂い）で記憶痕跡細胞が再活性化される。本研究では加齢体のキノコ体神経細胞の記憶痕跡細胞を可視化し、行動実験で検証した。その結果、加齢体では記憶情報のコーディング（記憶痕跡細胞の形成）は正常であり、獲得した記憶情報の特異性が失われる「記憶の汎化」が起きていることを見出した。

## 2. 結果

加齢による長期記憶障害の原因がどの記憶過程にあるかを遺伝学的、分子形態学的に明らかにすることにした。若齢体のハエでは以下のことが示されている (Miyashita et al., 2018)。①長期記憶学習により形成される記憶痕跡細胞は長期記憶学習後、転写因子の一つcFos陽性細胞として標識できる。②記憶テスト時の匂いで活性化された神経細胞はMAPキナーゼERKのリン酸化が起こり、抗pERK抗体で標識できる。③遺伝学的手法によりcFos陽性細胞（記憶痕跡細胞）特異的にチャネルロドプシン

（ChR2）を発現させると、光刺激のみで記憶が想起され、長期記憶を基盤とした行動を示す。そこで①では記憶情報の形成過程を、②では想起で活性化される神経細胞の実体を、③では長期記憶行動の障害が想起過程の障害か、または想起以前の過程に起因するものかを検証した。

結果① 加齢体キノコ体細胞でも記憶痕跡細胞が形成された。

による検証：温度依存的（32 °C）に転写因子 cFos プロモーター下で GFP が発現するハエを作製した。このハエを用いれば長期記憶学習中のみ温度を上げて長期学習特異的な cFos の発現を同定できる。長期記憶学習 24 時間後の加齢体における cFos(GFP)を確認したところ、加齢体でも若齢体同様の cFos 陽性細胞が検出され、加齢体でも若齢体同様に記憶痕跡細胞が形成されることが分かった。

結果② 加齢体の記憶痕跡細胞も CS+の匂いに対して再活性化された。

②による検証：加齢体で長期記憶学習 24 時間後に CS+の匂いを呈示し、活性化されるキノコ体神経細胞を、抗 pERK 抗体で確認した。cFos 陽性細胞の CS+による活性化を調べると、若齢体同様、多くの cFos 陽性細胞で pERK 陽性シグナルが観察された。これらの結果から記憶痕跡細胞が若齢体同様、学習した CS+によって再活性化されることが分かった。

結果③ 強制的に記憶痕跡細胞を活性化すると加齢体も記憶想起行動を示した。

③による検証：定常状態では若齢体、加齢体共に青色光と緑色光を同時に与えると青色光への走光性を示す。遺伝学的に長期記憶学習で形成される cFos 陽性細胞（記憶痕跡細胞）特異的に ChR2 が発現するハエを作製した。このハエの若齢体で長期記憶後に青色光と緑色光を同時に与えて走光性を調べると、嫌悪記憶が呼び起こされるため青

色光への走行性が消失する (Miyashita et al., 2018)。同様に加齢体で長期記憶学習 24 時間後、青色光と緑色光を同時に与えると加齢体も青色光への走光性が消失した。この結果から、加齢体でも若齢体同様に記憶痕跡細胞が形成・保持されることが示唆された。

結果④ 加齢体は学習した匂いの区別ができない「記憶の汎化」が生じた。

加齢体も若齢体同様に記憶痕跡細胞が形成・保持され CS+ で再活性化されるのに、何故長期記憶障害が起こるのか？通常の記憶テストでは CS+ と CS- を選択させるが、若齢体と異なり加齢体では CS- を選択する個体が増える。そこで記憶痕跡細胞が CS+ だけでなく、CS- によっても活性化される可能性を考えこれを検証した。長期記憶学習 24 時間後、CS+ と CS- で活性化される (pERK 陽性) cFos 陽性細胞の割合を若齢体と加齢体で比較した。若齢体の記憶痕跡細胞は CS+ で約 60%、CS- で約 25% 活性化された。一方、加齢体では CS+ だけでなく CS- に対しても約 60% の cFos 陽性細胞が活性化された。この結果から加齢体では記憶痕跡細胞が正常に形成されるが、匂いに対する選択性が消失したこと、即ち記憶情報の汎化が起きていることが示唆された。

そこで実際に記憶の汎化が生じているか行動実験で検証した。長期記憶学習 24 時間後、CS+、CS- に加えて新規の匂いに対する匂い応答を調べた。若齢体は CS+ に対して嫌悪行動を示し、CS- 及び新規の匂いに対しては嫌悪行動を示さなかった。一方、加齢体は CS+ ばかりでなく、CS- 及び新規の匂いに対しても同様の嫌悪行動を示した。これらの結果から、加齢体では記憶情報の匂い特異性を失う記憶の汎化が生じていることが行動レベルで示された。

結果⑤ 加齢体の記憶障害は NMDA 受容体拮抗薬メマンチンでレスキューされた。

上記の結果から、加齢体では記憶保持過程で記憶痕跡細胞若しくは細胞間ネットワークが何らかの修飾を受けた結果、記憶の汎化が起こると示唆された。これまでの先行研究から、加齢体では長期記憶学習以降も脳内グルタミン酸シグナルが上昇し、その結果長期記憶障害を起こすことが示されている (Matsuno et al., 2019)。これは長期記憶学習後の過剰なグルタミン酸により、記憶情報の匂い特異性が失われた可能性を示唆している。

先行研究において、加齢体のグルタミン酸シグナルを長期記憶学習後、N-メチル -

D-アスパラギン酸受容体（NMDA 受容体）拮抗薬メマンチンで抑制すると、長期記憶は若齢体レベルまで改善されることが分かっている（Matsuno et al., 2019）。そこで加齢体における記憶の汎化も過剰なグルタミン酸シグナルの過剰な状態が原因と考え、メマンチンを長期記憶学習後から記憶テスト開始まで経口投与し、記憶の汎化に与える影響を調べた。長期記憶学習 24 時間後メマンチンを投与していない群は CS+ 及び CS- の両方の匂いに対して嫌悪行動を示した。一方、メマンチンを投与した群は CS+ からは嫌悪行動を示し、CS- からは嫌悪行動を示さなくなった。さらに、メマンチンにより記憶痕跡細胞レベルで匂いに対する応答特異性が回復した。これらの結果から記憶保持過程における過剰なグルタミン酸シグナルを抑制すると、記憶の汎化が抑制され加齢体の長期記憶が改善されることが示された。

### 3. 結論・今後の展望

これまで加齢性記憶障害の実体があまり分かっていなかったが、本研究によって加齢性記憶の実体を細胞レベルで確認できた。加齢体も若齢体同様、長期記憶（記憶痕跡細胞）を形成する。しかし、加齢体は若齢体と異なり長期記憶学習で上昇した脳内グルタミン酸シグナルが、学習後も維持されるため記憶情報の匂い特異性が消失することが行動レベルで示唆された。これまでの先行研究から、加齢体では、長期記憶学習後の NMDA 受容体を介した過剰なグルタミン酸シグナルがドパミン作動性神経（DAN）を過剰に活性化させるため長期記憶障害が起こることが示唆されている。今後は記憶汎化を引き起こす DAN を同定すると共に、過剰な DAN の活性と記憶汎化との関連を明らかにする。具体的には同定した DAN の活性が、若齢体と比べて加齢体では長期記憶学習後に上昇しているか *in vivo* イメージングで確かめる。更に同定した DAN の活性抑制で加齢体の長期記憶が回復するか、さらに記憶痕跡細胞の匂い応答特異性も回復するかを検証する。

記憶汎化の現象は、例えば人の顔を見ても名前が複数想起され明確に思い出せない脳内メカニズムに似ている。記憶の汎化メカニズムの解明は記憶障害の改善や危険でない状況に対しても必要以上に恐怖を感じる心的外傷後ストレス障害（PTSD）の解明にも多くの知見を与える。