

Title	記憶はどのようにして形成されるか? : 最近の話題
Sub Title	
Author	柚崎, 通介(Yuzaki, Michisuke)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.4 (2003. 12) ,p.131- 139
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	綜説
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20031200-0131

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

綜 説

記憶はどのようにして形成されるか？—最近の話題

慶應義塾大学医学部生理学教室

ゆ ぎ みち すけ
 柚 崎 通 介

Key Word: memory, glutamate receptor, long-term potentiation, long-term depression, cerebellum

はじめに

記憶がどのようにして形成・蓄積され、どのようにして失われていくのか、という根源的な問題について私たちはいったいどれくらいの知識を得てきたのであろうか？記憶のメカニズムの研究は、人間が人間たりうる究極の機能を理解する、といった純粋科学的な意味のみでなく、どのようにすれば子供達の脳機能を育むことができるか、あるいは、どのようにすれば老化や疾患に伴う痴呆を防げるか、といった教育的あるいは臨床的な観点からも非常に重要な問題である。

記憶の本体は、神経細胞間の接続部であるシナプスの変化(可塑性)であると考えられている。しかし、神経活動の変化が、どのようなメカニズムでシナプスの変化に変換され貯蔵されるのか、といった基本的な問題については、依然としてわからない点が多い。丁度10年前に、私は同じテーマで総説を書いた¹⁾。本総説では、他分野の研究者や研究者の卵の方たちを念頭に、その後の進歩の一端を概説し、さらに私たちの研究室での仕事を簡単に紹介したい。

個体の記憶と細胞の記憶

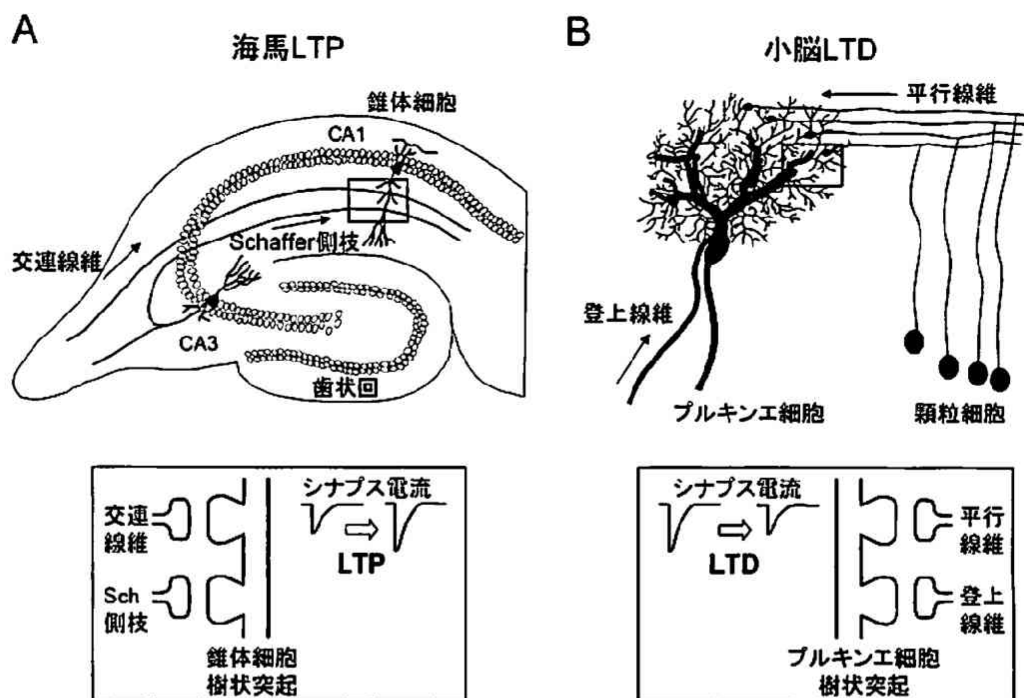
人間の記憶にはさまざまな種類があり、それぞれ性質が異なる。例えば、「非陳述記憶」は、ピアノが上手に弾けるようになる、車が運転できるようになる、などといった行動や技術に直結した記憶で、小脳が大きく関与している。これに対して「陳述記憶」は、言葉で説明できる記憶で、海馬の関与が必須である。これらの個体レベルでの記憶を、そのもとになっている神経回路や、さらにそれを支える分子のレベルで理解することが、神経科学の最大の課題である。従来は脳疾患患者の脳機能を

調べたり、動物では脳の各部位を破壊することにより、情報を得るしかなかったのだが、近年のPETやfMRIなどの機能的イメージング技術の進歩により、各種情報処理時に活性化される神経回路に関する知見は飛躍的に拡大した。

行動レベルでの記憶・学習の研究は、従来行われていたウサギ・ラットなどの動物のみでなく、遺伝子操作が容易なマウスにおいて実験パラダイムが確立しつつある。具体的には、マウスでは海馬が関与する記憶は迷路学習など空間情報の記憶をテストする。これに対して、小脳が関与する記憶は、条件づけ反射や眼球運動の調節学習としてテストすることができる。例えば、音刺激のみではマウスは瞬きをしないが、音刺激と目への直接刺激を組み合わせると、音刺激のみで瞬きをするようになる。この記憶の形成には小脳の神経回路が必須である。

細胞レベルでのシナプス可塑性のモデルとしては、長期増強(Long-term potentiation: LTP)と長期抑圧(Long-term depression: LTD)という現象がとりわけ研究されてきた。この2つの現象は海馬でも小脳でも見られるが、学習に伴って神経活動が亢進すると、海馬では神経細胞間の連絡、すなわちシナプス伝達効率が向上して、主にLTPが起き、逆に小脳ではシナプス伝達効率が低下してLTDが起きる(第1図)。学習原理として海馬では塑像の、小脳では彫像の原理を用いているといわれる所以である。

LTPとLTDが発見されてから、当然のことながらこれらの細胞レベルでの記憶が本当に個体レベルでの記憶に必要な十分であるのか検討されてきた。例えば迷路学習を行った動物から取り出した海馬切片においてはLTPが起き易いとか、逆に生きた動物に電気刺激によりLTPを引き起こしてやると、その後の迷路学習の成績が向上するなどの実験であるが、なかなか決定的な



第1図 細胞レベルの記憶モデル—LTPとLTD A. 海馬CA1領域の錐体細胞でのLTP. 錐体細胞の樹状突起には対側の海馬から交連線維, CA3領域の錐体細胞からSchaffer側枝がシナプスを形成する. それぞれの線維が高頻度刺激されると, それぞれの線維において特異的にシナプス応答が持続的に上昇し, LTPが成立する. あるいは, 2つの線維が同時に刺激されると, 普段LTPが起きないような低頻度刺激でもLTPが起きる. これを異シナプス性LTPという. B. 小脳皮質の唯一の出力細胞であるプルキンエ細胞の樹状突起には, 遠位部に顆粒細胞の軸索である平行線維が, 近位部には下オリーブ核の軸索である登上線維が, それぞれシナプスを形成する. この2つの線維が同時に刺激されると, 平行線維—プルキンエ細胞間のシナプス応答が長期間低下し, (異シナプス性)LTDが成立する.

因果関係を示す証拠はなかった. しかし, 遺伝子ノックアウトマウスを初めとする遺伝子操作技術の進歩により, 個体レベルでの記憶・学習と神経回路レベルでのLTP・LTD, さらにそれを支える分子のレベルでの知見とが, 後述するように直接に関連付けられるようになってきた. これは近年の記憶の研究分野での, 大きな進歩である.

短い記憶と長い記憶

記憶は保持時間の長さからは, 短期記憶と長期記憶に大きく分類される. 長期のシナプス可塑性は, 新規蛋白合成やRNAを阻害すると, 形成されないが, 短期のシナプス可塑性は影響を受けないことが, さまざまな動物種の多くの学習課題において証明されている. 脳切片(海馬)を用いた研究でも, 遺伝子発現の不必要な早期

LTP(1~3時間持続)と, 必要な後期LTP(24時間以上持続)が存在する. 小脳LTDにも同様に保持時間と遺伝子発現依存性により, 2種類のLTDがある²⁾.

1. 長期記憶

1) 記憶遺伝子

学習刺激に伴い, 神経細胞内でmRNA発現量が増加する遺伝子群には, 刺激後に速やかに変化し, 新規蛋白合成を必要としない「最初期遺伝子」と, ゆっくり変化しmRNAの発現に新規蛋白合成を必要とする「後期遺伝子」との2つのカテゴリーがある. 海馬LTPにおけるDifferential display法の結果からは, 30~40種類の最初期遺伝子の変動し, そのうち10~15種類が転写因子であると推定されている³⁾.

2) 転写因子— zif268 と CREB

転写因子の中ではとりわけ zif268 が海馬 LTP 発現とよく相関する。実際に、zif 268 ノックアウトマウスにおいては、海馬での早期 LTP は正常であるが、後期 LTP が特異的に障害され、同時に個体レベルでの記憶の長期保持も障害されず、zif 268 の mRNA 発現上昇が長期記憶の形成に必要であることが示された⁴⁾。一方、小脳 LTD においても junB, c-fos などの転写因子が特異的に上昇するが、この現象と LTD や個体小脳での記憶形成との因果関係は未だに不明である²⁾。

転写因子の中では、mRNA の発現量自体は変化しないが、cyclic AMP response element binding protein (CREB) も、学習刺激に関連して特異的に活性化される⁵⁾。CREB は、さまざまな酵素によりリン酸化されて活性化されるが、学習刺激の場合は、カルシウム—カルモデュリンキナーゼ IV (CaMKIV) によるリン酸化が主体である⁶⁾。ハエやアメフラシにおいては CREB の機能を阻害すると長期記憶の形成が阻害されることが証明された。マウスにおいては 3 種類の CREB 遺伝子がある。CREB α と Δ の 2 重ノックアウトマウスでは、予想通り海馬 LTP や迷路学習障害が報告された⁵⁾。ただし最近になり、この結果はむしろマウスの系統に依存した人工的な現象であり、また CREB α , Δ , β の 3 重ノックアウトマウスでは LTP も個体レベルでの長期記憶の形成も正常であるとの報告が出てきている⁷⁾。しかし、下等動物とは違い、哺乳類では CREB 以外にも、cyclic AMP response element modulator (CREM) や ATF-1 が同様の機能を持っていることが分かっている。CREB のノックアウトマウスでは、CREM の発現量が代償的に上昇しているの、この結果から、CREB が哺乳類で長期記憶の形成に関与していることを否定はできない。

一方、CREB 信号系の抑制分子も神経活動に依存して活性化される。これらの分子はハエやアメフラシでの学習課題において、短期記憶から長期記憶への固定化を妨げる。マウスの場合、C/EBP 転写因子のうち δ や、抑制型 β 、さらにそれと協調して働く ATF4 は CREB 信号系を阻害しており、これらの長期記憶抑制因子を取り除くと、長期 LTP の発現や個体レベルでの長期記憶の形成が亢進し、「頭のよい」マウスとなる⁸⁾。

3) 転写因子以外の最初期遺伝子

転写因子以外の最初期遺伝子としては、機能が不明の分子 Arc、神経伝達物質受容体の集積に関与する Homer や Narp、さらに細胞外基質の分解酵素である

tissue plasminogen activator (tPA) などが海馬 LTP と相関することが知られている。これらの遺伝子 mRNA の上昇と記憶形成との因果関係も近年次第に明らかになってきた⁹⁾。例えば Arc に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドをラットの海馬に注入すると、後期 LTP や個体レベルでの長期記憶の形成が阻害される。tPA 遺伝子のノックアウトマウスでも同様の報告があり、逆に tPA を過剰発現するトランスジェニックマウスでは後期 LTP や長期記憶が亢進する。

脳由来神経栄養因子 (Brain-derived neurotrophic factor: BDNF) は、mRNA 発現に新規蛋白合成を必要としない、という点では最初期遺伝子に分類されるが、発現の時間経過は非常に遅く、神経活動が亢進してから 2~4 時間後以降に上昇してくる^{10,11)}。海馬 LTP のみでなく小脳 LTD の後にも特異的に BDNF mRNA 発現が上昇することを私たちは見出した¹⁾。また神経活動に応じた BDNF 蛋白の分泌亢進も報告されている。BDNF のノックアウトマウスや BDNF と BDNF 受容体 TrkB との結合を阻害すると、海馬における早期 LTP は正常であるが、後期 LTP が障害される。TrkB のホスホリパーゼ C 活性化部位を変異させたノックインマウスは、BDNF ノックアウトマウスと似た所見を示すことから、BDNF はホスホリパーゼ C γ を介してイノシトール 3 リン酸受容体から細胞内 Ca を放出させ、これがおそらく CaMKIV を活性化し、CREB のリン酸化につながるものであろうと想定されている¹²⁾。

4) 今後の展望

学習刺激に伴う遺伝子群の発現量の変動が、単なる神経活動に付随した現象に過ぎないのか、長期記憶の固定化に因果関係があるのか、という問題は長年の課題であったが、近年のマウス遺伝子操作の進歩により、少なくともいくつかの遺伝子は、短期記憶から長期記憶の固定化に必要な十分な、「メモリースイッチ」として働いていることが明らかになりつつある。しかし、どのようなプログラムのスイッチを On にするのが未だにわからない。例えば CREB が、どの遺伝子の発現を調節しているのだろうか？前述の zif 268 の転写調節領域には 2 個の CREB の結合部位があるが、このような遺伝子は無数にある。また多くのメモリースイッチ分子は、他の経路のスイッチも兼ねていることが多く、話しはさらに難しい。例えば CREB や C/EBP などは神経細胞死プログラムのスイッチとしても働いていることが明らかになっている。

一方、成熟したマウスを、「豊かな環境」に置くと、

海馬の歯状回での神経細胞の新生が亢進し、また LTP も置きやすくなることが分かってきた¹³⁾。神経細胞の新生と長期記憶の成立との関係についての研究は、これからの課題である。

2. 短期記憶

数時間以内の持続時間しかない、遺伝子発現に依存しない短期の記憶はどのようにして起きるのであろうか？これまで細胞レベルにおいて早期 (1~3 時間以内) の LTP や LTD の成立機構が詳細に研究されてきた。これらの所見が、個体レベルでの短期記憶を少なくとも部分的には反映していることが、近年のノックアウトマウスの結果から明らかになってきた。

1) 記憶素子としてのグルタミン酸受容体

哺乳類の中樞神経系での速い (ミリ秒単位) 神経伝達にはグルタミン酸受容体 (glutamate receptor: GluR) により担われている。神経細胞間の伝達効率の変化とは、まさに GluR 信号伝達経路の変化である。そういった意味で、GluRこそが、脳における伝達素子と同時に「記憶素子」である。

GluR は薬理学的性質により、大きく α -amino-3-hydroxyl-5-methyl-4-isoxazolepropionate (AMPA) 型、カイニン酸型、と N-methyl-D-aspartate (NMDA) 型に分類される。この他にイオンチャネルを持たない代謝型 GluR がある。速い神経伝達はこのうち、AMPA 型により担われている。AMPA 型 GluR は遺伝子としては GluR1 から 4 までの 4 種類があり、脳においてはこれらのサブユニットが会合して一つの AMPA 受容体チャネルを形成する。細胞内の粗面小胞体において、おそらくさまざまなサブユニットが、特異的に会合して細胞表面に輸送され、さらに特定のシナプスに定着するものと考えられているが、その過程については未だに分かっていない点が多い。

近年、GluR のリガンド結合部位の部分蛋白質の結晶化が成功し、X 線にて構造解析が行われことにより、リガンドと GluR の結合や脱感作の過程についての理解が大幅に進んだ¹⁴⁾。リガンド結合型イオンチャネルでは、リガンドが結合した後に、チャネル部分の立体構造が変化して、イオンが通過できるように開口する。この過程はゲート機構と呼ばれ、イオンチャネルの非常に重要な基礎的な性質である。例えばある種の遺伝性てんかんは、Na チャネルの突然変異により、僅か数ミリ秒の開口の遅れにより起きる。しかし GluR のゲート機構についてもほとんど分かっていない。最近私たちは、自然発症

ミュータントマウスの解析を通して、GluR のゲート機構や会合機構について新しい知見を得つつある。興味のある読者は他の総説を参照されたい^{15,16)}。

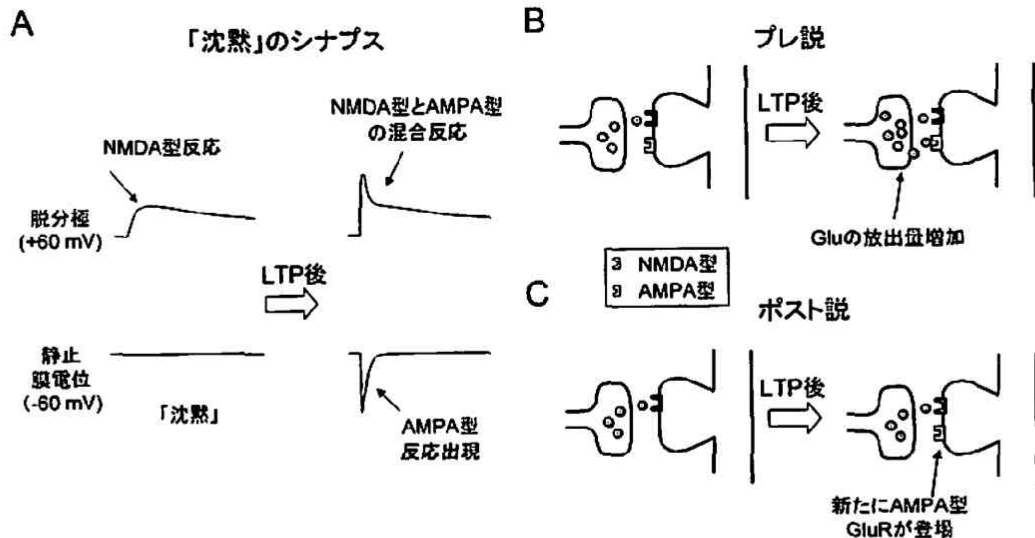
2) 後ろか前か—沈黙のシナプスは語る (第2図)

海馬 LTP において、グルタミン酸を介するシナプスの伝達効率が亢進する分子機構としては、シナプス前部からのグルタミン酸の放出量に変化するか (プレ説)、あるいはシナプス後部に存在する GluR の性質や数に変化するか (ポスト説)、の 2 つの可能性がある。プレ説とポスト説については、研究者が 2 陣営に分かれて果てしなく議論が続いており、未だに結論は出ていない。

いずれの説においても、海馬の CA1 野など多くの脳部位においては、LTP の成立機構として、シナプス後部における NMDA 型 GluR の活性化が、非常に重要な働きを果たすという点は共通している。AMPA 型やカイニン酸型と異なり、NMDA 型 GluR は静止膜電位付近 (-60~-80 mV) ではシナプス応答には関与しない。これは NMDA 型 GluR のチャネル部分が、細胞外に存在する Mg イオンにより塞がれているからである。神経活動が亢進し、神経細胞が十分に脱分極した時のみ、Mg イオンが外れて、NMDA 型 GluR を介する遅いシナプス電流が観測される。NMDA 型 GluR を介するシナプス電流のもう一つの大きな特徴は、AMPA 型と異なり、Ca イオンを非常に通過させることである。その結果、シナプス後部での細胞内の Ca 濃度が局所的に上昇し、さまざまな Ca 依存性の細胞内信号伝達系を活性化する。このように、膜電位依存性に活性が変化する NMDA 型 GluR は、細胞の興奮状態の検知器としての役割を果たすと考えられる。

プレ説をとる場合、シナプス後部での NMDA 型 GluR の活性化に引き続いて、シナプス後部から前部に逆行性の信号を想定する。逆行性の分子としては一酸化窒素やアラキドン酸、platelet activating factor などが知られている。最近、一酸化窒素はシナプス前部においてグアニルシクラーゼを活性化し、産生された cGMP は phosphatidylinositol 4,5 bisphosphate (PIP₂) の産生を増やし、PIP₂ はシナプス小胞のエンドサイトーシスとリサイクルを亢進させ、その結果グルタミン酸の放出量を増やすことが分かった¹⁷⁾。

一方、ポスト説では、NMDA 型 GluR の活性化に引き続いてプロテインキナーゼが活性化され、GluR そのものがリン酸化の基質として修飾されると考えられる。例えば、GluR1 サブユニットがリン酸化されると、チャネルの性質が変化して、イオンを通しやすくなったり



第2図 「沈黙」のシナプスは語る A.通常のシナプスに、弱い刺激を与えると、静止膜電位付近では全く応答が見られないシナプスがあり、「沈黙」のシナプスと呼ばれる。シナプスが形成されていることは、シナプス後膜を脱分極させた状態では、NMDA 受容体を介した遅いシナプス電流が観測されることで確認できる。LTP を引き起こすような刺激をシナプスに与えると、このようなシナプスにおいても、静止膜電位付近で AMPA 型のシナプス応答が見られるようになる。B, C 沈黙のシナプスの二つの解釈。プレ説 (B) では、シナプス後膜には元から AMPA 型と NMDA 型 GluR が存在しているが、シナプス間隙に於けるグルタミン酸濃度が低い場合、感受性の低い AMPA 型は活性化されないために「沈黙」のシナプスとして振る舞うと考える。LTP 誘導刺激により、シナプス前部よりのグルタミン酸放出量が増加すると、AMPA 型 GluR も活性化される。ポスト説 (C) では、NMDA 受容体しか存在しないシナプスが「沈黙」のシナプスであると考えられる。LTP 誘導刺激後に、このようなシナプスに新たに AMPA 型 GluR が組み込まれる。

(コンダクタンスの上昇)、チャネル開口確率が上昇することが示されている。

近年、沈黙のシナプス (Silent synapse) の解釈を巡って、再びプレ説とポスト説の衝突があった (第2図)¹⁸⁾。沈黙のシナプスというのは、NMDA 型のシナプス応答 GluR のみがみられるシナプスで、静止膜電位付近では全くシナプス応答がなく、神経細胞を脱分極させた時にのみ、NMDA 型 GluR 由来の遅いシナプス電流が観測される。面白いことに LTP が成立すると、沈黙のシナプスは消失し、静止膜電位付近では AMPA 型 GluR 由来の速いシナプス応答と、脱分極側では AMPA 型と NMDA 型の複合型の応答が観測される。この現象は、ポスト説の立場からは、NMDA 型 GluR しか発現していなかったシナプスに、LTP 刺激により新たに AMPA 型 GluR が組み込まれるためであると考えられる (第2図 C)。最近、細胞内 Ca 濃度上昇により、カルシウム・カルモデュリンキナーゼ II (CaMKII) が活性化されると、GluR1 サブユニットがシナプス後部に特異的に輸送されることが示され¹⁹⁾、ポスト説を強く支持している。

個体レベルにおいても、GluR1 が、神経活動亢進に伴って、新たにシナプス後部に輸送されることが証明された²⁰⁾。また、GluR1 のリン酸化状態は、シナプス後膜に輸送された GluR1 の安定した発現を規定するらしい。実際に、GluR1 のリン酸化部位を変異させたノックインマウスでは、LTP や個体での海馬依存性学習が障害される²¹⁾。

一方、プレ説の立場からは、AMPA 型 GluR はグルタミン酸に対する感受性が NMDA 型 GluR よりも低いので、局所的なグルタミン酸濃度が低いと、シナプスに AMPA 型 GluR があっても、見かけ上 NMDA 型 GluR しかない Silent synapse として振る舞うと解釈される (第2図 B)。そして LTP 刺激により、シナプス前膜よりグルタミン酸放出量が増え、新たに多くの AMPA 型 GluR が反応するようになり、Silent synapse が消失する。LTP 後に GluR1 サブユニットがシナプス後部に輸送されることが証明されてから、プレ説の旗色はやや悪い。しかし、高頻度刺激により LTP を引き起こしたあとの早い時期 (10~20 分) においては、

プレ説を支持する証拠は多い。従って、LTP 成立後の時間的経過や、刺激パターンによって、シナプス前部と後部の関与は変化する可能性があり、必ずしもプレ説とポスト説は相反的關係ではないだろう。

3) エンドサイトーシス過程としての LTD

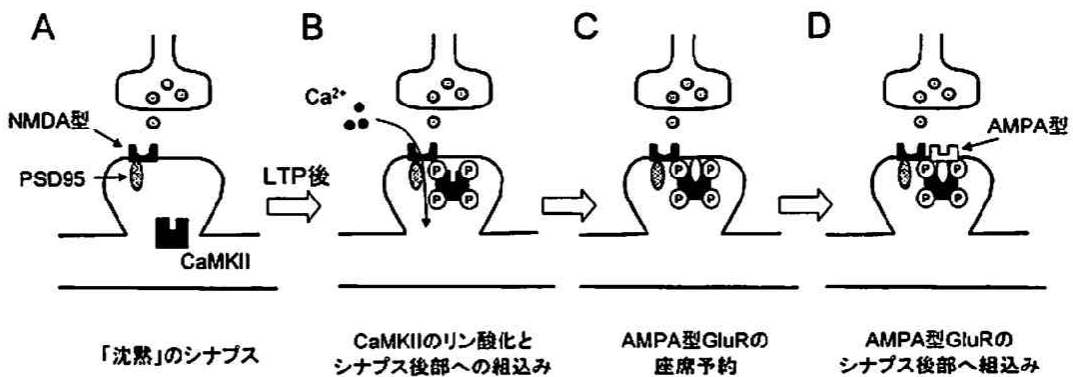
このように CA1 領域における海馬 LTP の実態は、シナプス後膜への新たな GluR の輸送による、という考え方が主流となってきた。逆に、LTD では、シナプス後膜からの GluR の消失により起こることを示す証拠が増えてきた。LTP では、GluR1 サブユニットが選択的に細胞表面に輸送されるが、LTD では、GluR2 サブユニットが選択的に細胞表面からエンドサイトーシスにより取り除かれると考えられている。GluR2 サブユニットのカルボキシル末端には、リン酸化状態により 2 種類の蛋白質（リン酸化されていない状態では GRIP、リン酸化されると PICK1）が結合する。いずれの蛋白質が結合するかにより、GluR2 サブユニットがシナプス後膜上に安定して存在できるか、エンドサイトーシスされるかが規定されるという仮説である。海馬と小脳の LTD において、ともに GluR2 サブユニットのエンドサイトーシスが亢進することが確認されている^{22,23)}。ただし、この詳しい分子機構には不明な点が多い。例えば、そもそも海馬と小脳の LTD では、誘発時の細胞内 Ca 濃度依存性が大きく異なり、細胞内信号伝達機構が共通であるとは考えにくい。また、海馬では GRIP が結合し

た GluR2 はシナプス膜表面に輸送されず、細胞内のプールに係留されるというデータが得られているが、小脳では逆に GRIP と結合した GluR2 は、シナプス後膜表面への係留に必要である。更に、後述するように、小脳 LTD の発現には、シナプス後膜に $\delta 2$ 型 GluR の存在が不可欠であるが、海馬にはそもそも $\delta 2$ 型 GluR が発現していない。

4) 今後の課題

短期記憶形成の分子機構については、LTP・LTD ともかなり解明が進んだ。おそらく、シナプス後膜における GluR の表面輸送やエンドサイトーシスによる、GluR の数そのものの調節が、早期 LTP・LTD の発現の実態である、という仮説の大枠は正しいであろう。ただし、GluR の選択的表面輸送やエンドサイトーシスの分子機構については未解決な問題が多い。また、このような GluR の数の調節により成立した短期記憶が、前述した長期の記憶にどのように置き換わっていくのかについては、依然として最大の謎である。海馬 CA1 領域での LTP においては、シナプス後膜で増加した GluR1 サブユニットは GluR3 サブユニットに置き換わっていくことが示されているが、どのようにして個々のシナプスが、置き換わるべきサブユニットの数を記憶しているのであろうか？

面白い仮説として、シナプス後膜の CaMKII が短期記憶から長期記憶への橋渡し分子であるという説がある



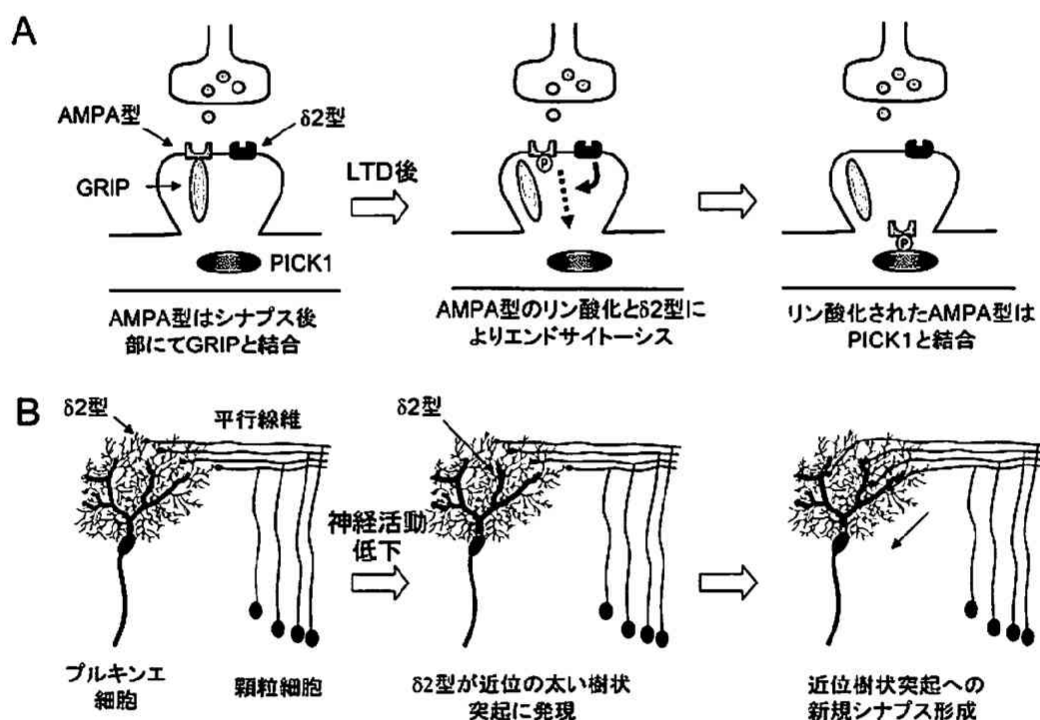
第3図 記憶の「座席指定券」としての CaMKII A. NMDA 型 GluR は足場蛋白質 PSD95 によりシナプス後膜に固定されている。AMPA 型 GluR が全くない場合、このシナプスは沈黙のシナプスとして振る舞う。B. LTP 誘導刺激後、NMDA 型 GluR を介して流入したカルシウムイオンは CaMKII をリン酸化し、リン酸化された CaMKII は NMDA 型 GluR に結合することにより、シナプス後膜に組み込まれる。C. CaMKII は細胞内カルシウムイオンが正常化した後も、自己リン酸化機能を通して、リン酸化状態を持続する。CaMKII には Actinin, Actin, 4.1N, SAP97 といった足場蛋白質の複合体が結合する。この複合体が AMPA 型 GluR の座席を予約する。D. AMPA 型 GluR がシナプス後膜に組み込まれる。

(第3図)²⁴⁾。CaMKIIはシナプス後部の細胞内Ca濃度が上昇すると、カルモデュリンが結合して活性化型の立体構造をとる。活性化型CaMKIIは、シナプス後膜のNMDA型GluRのNR2Bサブユニットに結合することにより、シナプス後膜肥厚(PSD)に集積する。CaMKIIはActininを介して細胞骨格蛋白アクチンと結合し、アクチンは4.1NとSAP97を介してGluR1サブユニットと結合することが知られている。したがって、CaMKIIがPSDに集積すると、その分だけGluR1サブユニットがシナプスに入れることになる。つまり、CaMKIIがGluR1が入る席を確保する座席指定券の役割を果たす。CaMKIIは12個のサブユニットが会合し、お互いに自己リン酸化をするために、新規に合成されてCaMKII複合体に参加したサブユニットも、他のサブユニットによりリン酸化される。すなわち、CaMKIIは「細胞内Ca濃度が上昇した」という過去の履歴を継承

することができる。この仮説はさまざまな最新の知見を取り入れた面白い仮説であり、今後の検証が待たれる。しかしこの仮説でも、短期記憶と、遺伝子発現に依存する長期記憶との関連は、依然として不明である。

小脳の記憶と $\delta 2$ 型GluR

$\delta 2$ 型GluRは、小脳プルキンエ細胞に特異的に発現し、アミノ酸配列からはGluRファミリーに属する。しかし、リガンドとしてグルタミン酸は一切結合せず、また神経伝達にも直接関与しないことから、孤児受容体として扱われてきた。一方、 $\delta 2$ 型GluRノックアウトマウスでは、小脳失調や、小脳に依存した学習が障害され、また小脳LTDも誘導できないことから、 $\delta 2$ 型GluRは小脳での記憶の成立に不可欠な役割を果たすことが示唆されていた。しかし、その実態は長らく謎であった²⁵⁾。



第4図 小脳LTDとシナプス形成におよぼす $\delta 2$ 型GluRのユニークな役割 A. 小脳LTDの成立機構のモデル。AMPA型GluRは、足場蛋白質GRIPにより、平行線維-プルキンエ細胞シナプス後膜に組み込まれている。LTD誘導刺激後に、プロテインキナーゼCが活性化されると、GluR2サブユニットがリン酸化され、GRIPとAMPA型GluRの結合が外れる。同時に $\delta 2$ 型GluRを介する未知の信号経路により、AMPA型GluRのエンドサイトーシスが起きる。リン酸化されたGluR2サブユニットは足場蛋白質PICK1と結合することにより、細胞内部に繋ぎ止められる。B. 神経活動による $\delta 2$ 型GluRと平行線維分布の変化。正常成熟マウスでは、 $\delta 2$ 型GluRは、プルキンエ細胞の遠位樹状突起に選択的に発現し、その部位に平行線維がシナプスを形成する。神経活動をテトロドトキシン投与により低下させると、 $\delta 2$ 型GluRがまず、近位樹状突起に発現する。それに引き続いて、同部位に平行線維が新規シナプスを異所性に形成する。

私たちは最近、 $\delta 2$ 型 GluR は、平行線維—小脳プルキンエ細胞シナプス後膜の GluR2 サブユニットのエンドサイトーシスを制御する働きをもっていることを見出した (第4図A)²⁶⁾。 $\delta 2$ 型 GluR のリガンド結合予想部位に対する特異的抗体を投与すると、シナプス後膜の GluR2 サブユニットがエンドサイトーシスされ、シナプス応答が長期間減弱する。この状態は LTD と同じ状態である。また、成熟マウスの小脳のくも膜下腔にこの抗体を投与すると、一過性に小脳失調と運動学習障害がみられる。 $\delta 2$ 型 GluR がエンドサイトーシスを制御する過程の分子機構については、現在色々な角度から検討中である。また、この抗体が $\delta 2$ 型 GluR の機能を修飾するということは、やはり $\delta 2$ 型 GluR には何らかの未知のリガンドが存在することを示唆するが、この点についても検討中である。

面白いことに、 $\delta 2$ 型 GluR は、シナプスの形成にも特徴的な重要な役割を果たす。まず、 $\delta 2$ 型 GluR のノックアウトマウスでは、平行線維—プルキンエ細胞シナプスの数が正常の 60%前後に減少している。このシナプス形成異常は、シナプス前部の平行線維終末や、シナプス後部 (プルキンエ細胞の樹状突起上の神経棘) の数そのものには変化がなく、接触状態にあるシナプスの数のみが特異的に減少しているという点が、非常に特徴的であり、 $\delta 2$ 型 GluR はシナプスの接触状態を調節する可能性が示唆される²⁵⁾。

$\delta 2$ 型 GluR は成熟動物の小脳では、プルキンエ細胞の樹状突起の遠位部分に特異的に発現し、そこに平行線維がシナプスを形成する。非常に面白いことに、成熟動物の小脳に、テトロドトキシンを投与して神経活動を低下させると、まずプルキンエ細胞の近位樹状突起に $\delta 2$ 型 GluR が異所性に発現し、それに引き続いて、平行線維シナプスが近位樹状突起に新しく形成される (第4図B)²⁷⁾。このように、 $\delta 2$ 型 GluR は短期の記憶形成に関与するのみでなく、シナプスの形成・維持などの形態的な変化を介すことにより、長期の記憶形成にも関与する可能性が出てきた。

皮肉なことに、長い間、継子扱いされてきた $\delta 2$ 型 GluR が、小脳の記憶機構のみでなく、短期記憶から長期記憶形成へと橋渡しする分子機構を解明する糸口として大きく期待されている。

おわりに

本総説では、海馬と小脳における記憶機構の最近の研究について概説した。記憶の種類により関与する脳部位

は異なり、シナプスの可塑性は恐らく脳内のあらゆる場所で起きている現象であろう。しかし海馬や小脳の特定の神経細胞で見つかった原理は他の神経細胞にもある程度敷衍できると考えられる。ただし、暗闇で落とした鍵を探すのに、探しやすいから、という理由で電燈の下だけを探している可能性を念頭に置いて、他の脳部位でのシナプス可塑性もさらに研究を進める必要がある。

紙面の都合で多くの仕事を紹介することができなかったが、この分野における私たちの興奮の状況が伝われば幸いである。10年後にまた進歩を概説する機会が来ることを楽しみにしている。

文 献

- 1) 柚崎通介, 御子柴克彦, 香川靖雄: 長期記憶と後期遺伝子発現—小脳の記憶モデルにおける解析, 実験医学, 12: 23-29, 1994
- 2) 柚崎通介: 小脳の「記憶」とその異常, 最新医学, 54: 140-144, 1999
- 3) Lanahan A, Worley P: Immediate-early genes and synaptic function. *Neurobiol Learn Mem* 70: 37-43, 1998
- 4) Jones MW, Errington ML, French PJ, Fine A, Bliss TV, Garel S, Charnay P, Bozon B, Laroche S, Davis S: A requirement for the immediate early gene Zif268 in the expression of late LTP and long-term memories. *Nat Neurosci* 4: 289-296, 2001
- 5) Mayford M, Kandel ER: Genetic approaches to memory storage. *Trends Genet* 15: 463-470, 1999
- 6) Kang H, Sun LD, Atkins CM, Soderling TR, Wilson MA, Tonegawa S: An important role of neural activity-dependent CaMKIV signaling in the consolidation of long-term memory. *Cell* 106: 771-783, 2001
- 7) Balschun D, Wolfer DP, Gass P, Mantamadiotis T, Welzl H, Schutz G, Frey JU, Lipp HP: Does cAMP response element-binding protein have a pivotal role in hippocampal synaptic plasticity and hippocampus-dependent memory? *J Neurosci* 23: 6304-6314, 2003
- 8) Chen A, Muzzio IA, Malleret G, Bartsch D, Verbitsky M, Pavlidis P, Yonan AL, Vronskaya S, Grody MB, Cepeda I, Gilliam TC, Kandel ER: Inducible enhancement of memory storage and synaptic plasticity in transgenic mice expressing an inhibitor of ATF4 (CREB-2) and C/EBP proteins. *Neuron* 39: 655-669, 2003
- 9) Guzowski JF: Insights into immediate-early gene function in hippocampal memory consolidation using antisense oligonucleotide and fluorescent imaging approaches. *Hippocampus* 12: 86-104, 2002
- 10) Lu B: BDNF and activity-dependent synaptic modulation. *Learn Mem* 10: 86-98, 2003
- 11) Berninger B, Schinder AF, Poo MM: Synaptic reli-

- ability correlates with reduced susceptibility to synaptic potentiation by brain-derived neurotrophic factor. *Learn Mem* 6 : 232-242, 1999
- 12) Ernfors P, Bramham CR : The coupling of a *trkB* tyrosine residue to LTP. *Trends Neurosci* 26 : 171-173, 2003
- 13) Kempermann G, van Praag H, Gage FH : Activity-dependent regulation of neuronal plasticity and self repair. *Prog Brain Res* 127 : 35-48, 2000
- 14) Armstrong N, Sun Y, Chen GQ, Gouaux E : Structure of a glutamate-receptor ligand-binding core in complex with kainate. *Nature* 395 : 913-917, 1998
- 15) 柚崎通介：開かれた扉（ゲート）—突然変異マウスの解析が開いたグルタミン酸受容体の機能解明の扉。 *実験医学*, 18 : 1410-1413, 2000
- 16) Yuzaki M : New insights into the structure and function of glutamate receptors— The orphan receptor $\delta 2$ reveals its family's secrets. *The Keio J Med* 52 : 92-99, 2003
- 17) Micheva KD, Buchanan J, Holz RW, Smith SJ : Retrograde regulation of synaptic vesicle endocytosis and recycling. *Nat Neurosci* 6 : 925-932, 2003
- 18) Malenka RC, Nicoll RA : Silent synapses speak up. *Neuron* 19 : 473-476, 1997
- 19) Hayashi Y, Shi SH, Esteban JA, Piccini A, Poncer JC, Malinow R : Driving AMPA receptors into synapses by LTP and CaMKII : requirement for GluR1 and PDZ domain interaction. *Science* 287 : 2262-2267, 2000
- 20) Takahashi T, Svoboda K, Malinow R : Experience strengthening transmission by driving AMPA receptors into synapses. *Science* 299 : 1585-1588, 2003
- 21) Lee HK, Takamiya K, Han JS, Man H, Kim CH, Rumbaugh G, Yu S, Ding L, He C, Petralia RS, Wenthold RJ, Gallagher M, Huganir RL : Phosphorylation of the AMPA receptor GluR1 subunit is required for synaptic plasticity and retention of spatial memory. *Cell* 112 : 631-643, 2003
- 22) Man HY, Lin JW, Ju WH, Ahmadian G, Liu L, Becker LE, Sheng M, Wang YT : Regulation of AMPA receptor-mediated synaptic transmission by clathrin-dependent receptor internalization. *Neuron* 25 : 649-662, 2000
- 23) Matsuda S, Launey T, Mikawa S, Hirai H : Disruption of AMPA receptor GluR2 clusters following long-term depression induction in cerebellar Purkinje neurons. *EMBO J* 19 : 2765-2774, 2000
- 24) Lisman J, Schulman H, Cline H : The molecular basis of CaMKII function in synaptic and behavioural memory. *Nat Rev Neurosci* 3 : 175-190, 2002
- 25) Yuzaki M : The $\delta 2$ glutamate receptor : 10 years later. *Neurosci. Res* 46 : 11-22, 2003
- 26) Hirai H, Launey T, Mikawa S, Torashima T, Yanagihara D, Kasaura T, Miyamoto A, Yuzaki M : New role of $\delta 2$ -glutamate receptors in AMPA receptor trafficking and cerebellar function. *Nat Neurosci* 6 : 869-876, 2003
- 27) Morando L, Cesa R, Rasetti R, Harvey R, Strata P : Role of glutamate $\delta 2$ receptors in activity-dependent competition between heterologous afferent fibers. *Proc Natl Acad Sci USA* 98 : 9954-9959, 2001