

脳の香り記憶メカニズムの電気生理学的解析

五十嵐 啓

ノルウェー科学技術大学・カヴリ統合脳科学研究所 リサーチアソシエート

緒 言

脳の様々な領域で脳波 (EEG) 記録を行うと、シータ (6-12 Hz)・ガンマ (30-100 Hz) 等の波長帯の振動活動 (神経オシレーション) が観察されることが知られている¹⁻³⁾。これまでの研究から、これらの神経オシレーションの同期が、特化した機能をもつ脳領域群を統合させる役割を持つことが示唆されてきた。このような脳領域群の統合を必要とすると考えられる脳機能の一つに、陳述記憶がある⁴⁾。陳述記憶の機能は、脳皮質と海馬との間の情報の橋渡しを行う嗅内皮質 (entorhinal cortex) によって担われているが、陳述記憶の記録・想起の過程において、嗅内皮質と海馬の回路はガンマ波長帯 (30-100 Hz) のオシレーションによって相互作用していると考えられている。実際、覚醒中の齧歯類ではこの波長帯の活動が多く観察されており、以前我々の研究室では、学習後のラットの嗅内皮質と海馬から同時記録を行うと、同期したシータ・ガンマ波が見られることを報告した⁵⁾。しかしながら、これらの実験は動物が学習を済ませた後に行われたものであり、領域間の振動活動の同期と、記憶形成との関係は、不明であった。

結 果

筆者らは、複数の記録電極をラットの海馬CA1領域および嗅内皮質 (図1) に留置し、スパイク活動と local field potential (LFP) の記録を行った。ラットに、海馬依存的な学習である「匂い-場所連合課題⁶⁾」(図2) を三週間で85%以上の正答率が得られるまでトレーニングさせ、その期間中の神経活動を記録した。匂い-場所連合は (1) ラットが匂いサンプルポートに鼻先を入れ、匂いAまたは匂いBを嗅ぐ、(2) 匂いを嗅ぎ終わり、ポートから鼻先を出して二つある給餌ポートAまたはBのうちのいずれかまで移動する、(3) 給餌ポートに鼻先を入れ、それが正解であればスクロースの餌が得られるという三段階の行動タスクである。匂いAとBはランダムに出現するが、匂いAが呈示されたときは給餌ポ-

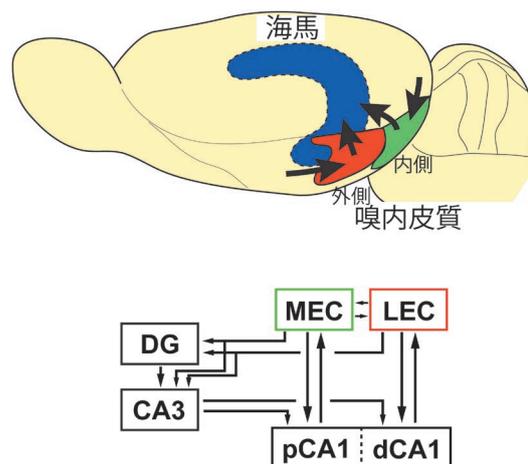


図1 上：ラット脳と海馬・嗅内皮質。嗅内皮質は外側と内側に分けられる。下：嗅内皮質-海馬系における情報の流れ。内側嗅内皮質 (MEC) と外側嗅内皮質 (LEC) の情報は、海馬CA1領域の proximal部および distal部へとそれぞれ直接送られる。嗅内皮質からは、海馬歯状回 (DG) および海馬CA3領域を経て、海馬CA1領域へと到達する経路も存在する。

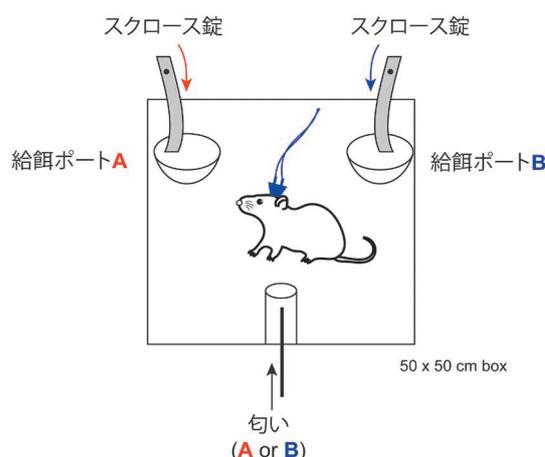


図2 匂い-場所連合学習。ラットは匂いサンプルポートに鼻先を入れ、匂いAまたは匂いBを嗅ぐ。匂いAが呈示されたときは給餌ポートAを、匂いBが呈示されたときは給餌ポートBへ移動して鼻先を入れなければ餌が得られない。この行動の学習中に、嗅内皮質および海馬から記録を行った。

トAを、匂いBが呈示されたときは給餌ポートBを選択しなければ餌が得られない。

筆者らはまず、この連合学習を終えたラットの海馬から記録を行った。その結果、海馬CA1領域ではラットが匂いを嗅いでいる間（匂いサンプル中）に20-40 Hz波長帯の強いオシレーション活動が観察されることが明らかになった。この20-40 Hzオシレーションは、海馬CA1のdistal部に強く、proximal部ではあまり観察されなかった。解剖学的には、海馬CA1 distal部は嗅内皮質の外側部から、海馬CA1 proximal部は嗅内皮質の内側部から直接投射を受けることが知られている⁷⁾(図3)。そこで筆者らは次に、嗅内皮質の外側部と内側部からそれぞれ記録を行った。その結果、ラットが匂いサンプル中に、嗅内皮質の外側部にのみ20-40 Hzオシレーションが観察された。さらに、海馬CA1のdistal部と嗅内皮質の外側部から同時記録を行うと、これらの領域で観察される20-40 Hzオシレーションが同期していることが明らかになった。

では、この同期は、海馬CA1のdistal部と嗅内皮質の外側部の間で特異的なのだろうか？ これを明らかにするため、海馬CA1のdistal部またはproximal部、および、嗅内皮質の外側部または内側部の組み合わせで同時記録を行ったところ、同期は海馬CA1のdistal部と嗅内皮質の外側部の間でのみ観察された。よって、匂い-場所連合課題では、20-40 Hzオシレーション活動を介し

た機能的な結合が、海馬CA1のdistal部と嗅内皮質の外側部の間でのみ見られることを示している。

次に筆者らは、本研究の主目的である、オシレーションの同期活動が学習中に変化するかという命題を検証した。学習をしていないラットに、あらかじめ海馬CA1のdistal部と嗅内皮質の外側部の両部位に記録電極を留置し、ラットが課題を学習する際の神経活動の変化を記録した。その結果、学習開始直後より、20-40 Hzオシレーション自体は海馬CA1のdistal部と嗅内皮質の外側部それぞれで観察されるものの、それらのオシレーションは同期していなかった。しかし、学習の進行に伴い20-40 Hzオシレーションの同期は増強され、学習を終えた段階でオシレーションの同期は最も増強されていた。

では、20-40 Hzオシレーションの同期がラットの正答行動に必要なのだろうか？ これを明らかにするため、筆者らはエラー試行における神経活動を検証した。ラットは85%の正答率で行動するが、残りの15%では間違った給餌ポートを選択してしまう。このようなエラー試行においては、面白いことに、20-40 Hzオシレーションの同期は減弱していることが明らかになった。すなわち、学習中に海馬-嗅内皮質間の結合が20-40 Hzオシレーションの同期によって増強され、この同期がラットの正答行動に必要であることを示している。

ここまでの結果はLFPとして観察される複数の細胞の集合活動の結果であった。細胞の集合活動として見ら

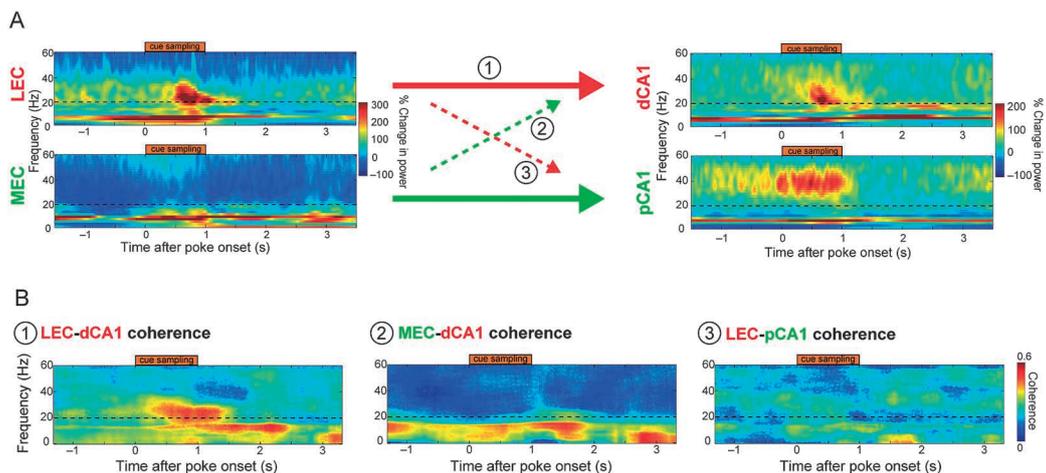


図3 海馬CA1のdistal部と、嗅内皮質の外側部で観察された20-40 Hzオシレーションは、匂い・場所連想学習中に同期する

(A) EEGスペクトラムの時間変化。(左) このタスクでは、20-40 Hzオシレーションは嗅内皮質の外側部 (LEC) では観察されたが、内側部 (MEC) では観察されなかった。(右) 海馬CA1では、同様の20-40 Hzオシレーションはdistal部 (dCA1) で観察されたが、proximal部 (pCA1) では観察されなかった。これまでの解剖学的な結果より明らかであるLEC-dCA1間の結合と、MEC-pCA1間の結合が太い矢印で示してある。

(B) 20-40 Hzオシレーションの同期を確認するため、(1) LEC-dCA1間、(2) MEC-dCA1間、(3) LEC-pCA1間のコヒーレンスを計算した。その結果、LEC-dCA1間のみが高いコヒーレンスを20-40 Hzにおいて示した。論文11) より改変。

れるLFPのオシレーション活動と同様の時間的構造が、個々の細胞においても見られるのだろうか？ また、個々の細胞も20-40 Hzオシレーションの同期のような、学習中の変化を示すのだろうか？ 筆者らは次に、ラットが匂いサンプル中に1 Hz以上の発火頻度を示す細胞を、海馬CA1のdistal部と嗅内皮質の外側部のそれぞれから60-80個記録し、この神経細胞のスパイク活動の学習中の変化を追った。

まず、これらのスパイク列の時間的構造を検討した。スパイク列がオシレーション活動と同様の時間的構造を持つかどうかを検証するため、20-40 Hzオシレーションの位相とスパイク発火タイミングの相互関係を解析したところ、海馬CA1のdistal部と嗅内皮質の外側部の細胞のスパイク列は、学習に伴い、20-40 Hzオシレーションの特定の位相で発火する傾向が強まる（位相ロックする）ことが明らかになった。このことは、20-40 Hzオシレーション活動が、海馬CA1のdistal部と嗅内皮質の外側部のいずれにおいても、個々の細胞のスパイクの集合として形成されていることを示唆している。

次に、細胞のスパイクが表現する情報について検討した。海馬CA1のdistal部と嗅内皮質の外側部の細胞の一部は、ラット学習後に匂いAと匂いBの間で異なる発火頻度を示す。このような「匂い選択的細胞」の割合を学習前後で比較すると、学習前と比べて学習後は有意に割合が上昇していた。このような変化は海馬CA1のdistal部よりも嗅内皮質の外側部においてより顕著に観察された。さらに、匂い選択的細胞の選択的な発火はエラー試行において減弱していた。この結果は、オシレーションの同期活動と同様に、海馬CA1のdistal部と嗅内皮質の外側部の神経細胞の匂い選択的発火が、ラットの正答行動に必要であることを示している。

さて、ここまでで、動物の正答行動率の上昇にともなって、20-40 Hzオシレーションの同期、海馬CA1のdistal部および嗅内皮質の外側部の神経細胞の匂い選択的発火が、それぞれ増強されることが明らかになった。では、これらの現象の間の相互関係はどのようになっているのだろうか？ いずれかの部位の神経活動が先に変化し、他の部位の活動を促しているのだろうか？

これを明らかにするため、筆者らは動物の学習期間を、未習熟から習熟まで5つの段階に分け、①行動の正答率、②20-40 Hzオシレーションの同期、③海馬CA1のdistal部の匂い選択的発火、④嗅内皮質の外側部の匂い選択的発火の増強パターンを比較した。その結果、い

ずれの因子間にも相関が見られた。しかし、面白いことに、①行動の正答率、②20-40 Hzオシレーションの同期、および④嗅内皮質の外側部の匂い選択的発火は類似した上昇曲線を描いたが、③海馬CA1のdistal部の匂い選択的発火は、前者三つの因子よりも遅れた立ち上がりを示した。この結果は、嗅内皮質の発火が、海馬CA1の変化を誘導している可能性を示唆している。

考 察

以上の結果から、20-40 Hzオシレーションの同期が、匂い・場所連想学習中に発達する海馬と嗅内皮質の神経回路の情報表現を統合させる機能を持つことが示唆された。これまで、脳のオシレーション活動が脳の別個の機能モジュールを統合させる可能性は示唆されてきたが³⁾、この統合機能が学習に関与しているのかどうかは不明だった。本研究は、オシレーション活動が脳の学習に関与すること、海馬-嗅内皮質の機能結合の増強に関与していることを示唆する初めての結果である。

20-40 Hzオシレーションの同期によって、嗅内皮質の外側部の細胞のシナプス前部と、海馬CA1のdistal部の細胞のシナプス後部のスパイク発火が時間的に近接したパターンを示すことで、スパイクタイミング依存的シナプス可塑性等のメカニズムにより、海馬-嗅内皮質間の増強が実現されるものと考えられる。

20-40 Hzオシレーションは、脳内で広く見られる現象である⁸⁾。特に、嗅球や梨状皮質などの嗅覚野では強い20-40 Hzオシレーションが観察され、これらの嗅覚野を結合する機能を持つと予想されている⁹⁾。嗅内皮質の外側部は、これらの嗅覚野からの直接投射を受けて嗅覚信号を海馬へと送り込む部位であり¹⁰⁾、20-40 Hzオシレーションがこれら嗅覚野-海馬全般にわたっての機能的結合を促進している可能性もある。私達は日常生活において、ある匂いを嗅いだ瞬間に過去の場面を鮮やかに思い出すことがあるが、このような匂いによる記憶の想起には、私たちの脳内で生じる20-40 Hzオシレーションが関与しているのかもしれない。

要 約

記憶、特に陳述的記憶の機能は、脳皮質と海馬との間の情報の橋渡しを行う嗅内皮質によって担われている。最近、嗅内皮質と海馬の回路が、ガンマ波長帯の神経オシレーション活動によって相互作用していることが示唆されたが⁵⁾、このガンマ波の記憶が形成される過程

との関係は不明であった。本研究では、ラットが場所-連想学習⁶⁾を行う際に嗅内皮質・海馬からの同時記録を行うことにより、学習中に(1)嗅内皮質と海馬のオシレーション活動の同期が強化され、(2)この同期の強化が、個々のトライアルの結果を表現するスパイク集団活動の発達と相関していることを明らかにした¹¹⁾。以上の結果は、神経オシレーションが、匂い・場所連想学習中に発達する海馬と嗅内皮質の神経回路の情報表現を統合させる機能を持つことを示唆している。

謝 辞

本研究を支援して下さった公益財団法人三島海雲記念財団に深く御礼申し上げます。

文 献

- 1) C. M. Gray, et al.: *Nature*, **338**, 334-337, 1989.
- 2) W. J. Freeman: *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, **44**, 586-605, 1978.
- 3) W. Singer: *Annu. Rev. Physiol.*, **55**, 349-374, 1993.
- 4) G. Buzsaki, E. I. Moser: *Nat. Neurosci.*, **16**, 130-138, 2013.
- 5) L. L. Colgin, et al.: *Nature*, **462**, 353-357, 2009.
- 6) M. Day, et al.: *Nature*, **424**, 205-209, 2003.
- 7) N. Tamamaki, Y. Nojyo: *J. Comp. Neurol.*, **353**, 379-390, 1995.
- 8) A. K. Engel, P. Fries: *Curr. Opin. Neurobiol.*, **20**, 156-165, 2010.
- 9) N. Ravel, et al.: *Eur. J. Neurosci.*, **17**, 350-358, 2003.
- 10) K. M. Igarashi, et al.: *J. Neurosci.*, **32**, 7970-7985, 2012.
- 11) K. M. Igarashi, et al.: *Nature*, **510**, 143-147, 2014.