

分子—海馬—記憶

—第 I 部：可塑シナプスの分子機構をめぐって—

酒 井 邦 嘉 宮 下 保 司

BRAIN and NERVE

第 42 卷 第 11 号 別刷
1990年 11 月 1 日 発行

医学書院

< 総 説 >

分子—海馬—記憶*

—第 I 部: 可塑シナプスの分子機構をめぐって—

酒井 邦 嘉** 宮 下 保 司

Key words: memory, hippocampus, LTP, LTD

I. はじめに

記憶はヒトのすべての精神機能の基礎である。記憶過程に関与する脳内の部位として、海馬 (hippocampus) が注目を集めるようになって久しい。しかしながら、海馬が記憶情報を実際にどのように処理しているのかは、今なお謎のままである (宮下 1985)。この問題に対して、主に5つの方法論が考えられる。第1に、ヒトの記憶障害の臨床例から、記憶に対して海馬の果たす役割を推測する立場が挙げられる。第2に、動物実験により、海馬またはその関連領域の損傷が記憶課題の学習に及ぼす影響を調べることである。第3に、記憶課題遂行中の動物から、海馬内のニューロン活動を記録して、その機能的相関を調べる方法がある。第4として、海馬のモデルを数学的に構築して、その神経回路網から、何が計算できるかを調べることである。第5には、海馬ニューロンの素子としての性質を、分子レベルから研究していく立場がある。これら5つのアプローチは、互いに密接に関連し、補い合って発展する。1つの方法論だけに固執してしまい、木を見て森を見ないことになってはいけぬ。例えば、海馬の内部構造の働きを詳しく知ろうとすると、第1および第2の方法だけでは不十分である。また、かつて Sperry (1967) が述べた警句は、第5の方法に対する問題提起である。それは、自分の知らない言葉で書かれたメッセージを前にして、インクと紙の化学成分を調べるような方法で解読できるか、ということである。第3および第4の方法にも、その枠組みの中だけで

は、技術的困難の故に手がつけられない問題が数多く存在する。

Fig. 1 A は、ヒトの脳の大脳、海馬を含む切断面である。海馬の部分の拡大図を Fig. 1 B に示した。大脳辺縁系 (limbic system) の中核を為す海馬は、特異的な内部構造を持っていることが見てとれる。この海馬の役割とは、いったいどんなものであろうか。海馬の損傷を受けたヒトの場合でも、古い記憶は残っているため、海馬はこうした長期的な記憶の場所ではない。では、いわゆるキャッシュ・メモリーのように、一時的に情報を貯めておくための受動的な入れ物にしかすぎないものであろうか。海馬と記憶の関係について論ずる際に、次の2点について注意しておきたい。記憶には、よく知られているようにいくつかの種類があり、そのどの部分に対して海馬が使われているのかを明らかにしなければならない。また、海馬は、単独で記憶過程のすべてを司るものではなく、ある記憶システムの一つの重要な要素として位置づけられるものである。それでは、海馬に必須な機能を実現するために、どんな神経機構および分子機構が必要とされるのであろうか。

本稿では、こうした観点から、海馬を中心とした記憶研究の現状を概観し、記憶制御装置としての海馬の機能を論ずる。この第 I 部では、海馬における LTP および LTD の最新の知見を紹介し、分子レベルから可塑シナプスの機構について考えてみる。最近の最も大きな成果は、素量解析を用いた実験により、LTP の発現におけるシナプス前機構の重要性が明らかにされたことであ

* Molecule—Hippocampus—Memory. Part I: On the Molecular Mechanisms of Synaptic Plasticity

** 東京大学医学部第一生理学教室 (〒113 東京都文京区本郷 7-3-1) Kuniyoshi Sakai and Yasushi Miyashita: Department of Physiology, School of Medicine, University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan

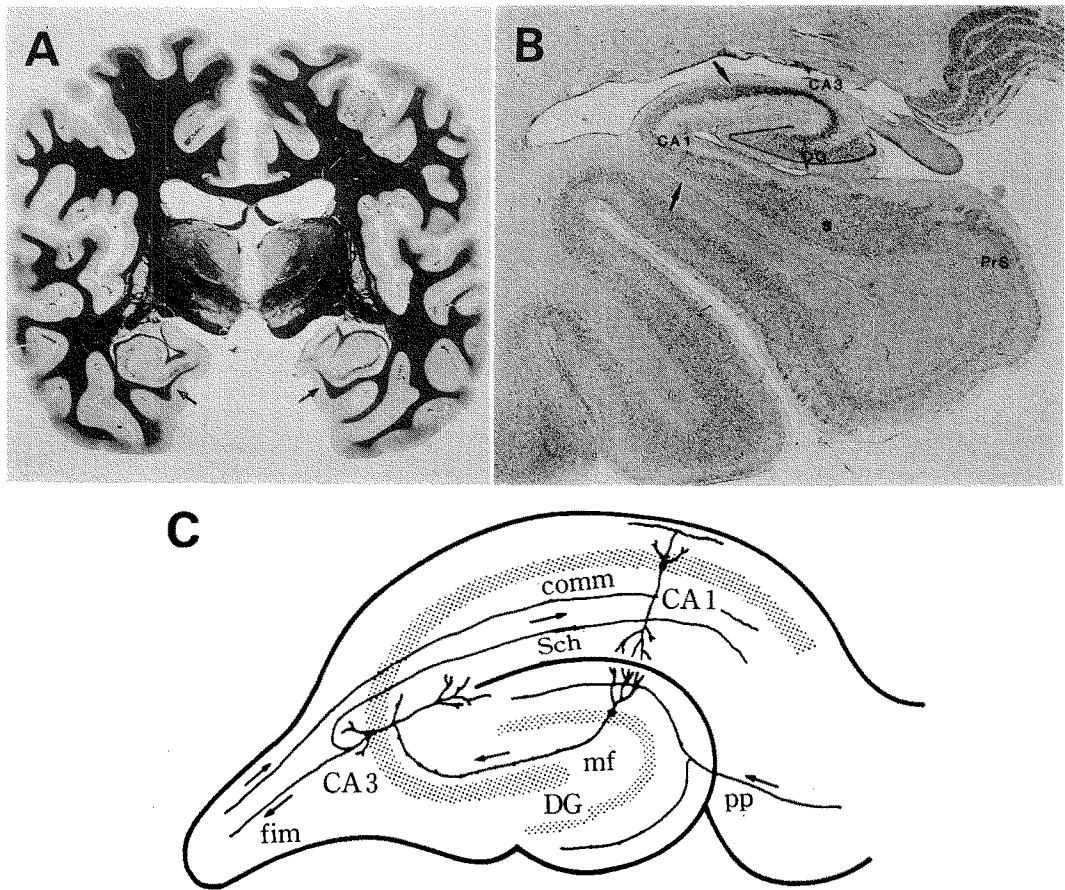


Fig. 1 Looking at the Hippocampus. A) Weigert-stained coronal section of a human brain (original in color). The arrows show the location of the hippocampus. (From Nauta & Feirtag 1979) B) Thionin-stained coronal section through the hippocampal formation of a human brain. The two arrows indicate the limits of the CA1 field. (From Squire 1986) C) The principal excitatory pathways in the hippocampus. (From Collingridge & Bliss 1987) Abbreviations: PrS, presubiculum; S, subiculum; DG, dentate gyrus; CA 1, CA 3, pyramidal cell fields of hippocampus; Sch, Schaffer collaterals; comm, commissural fibers to area CA 1 (commissural fibers to CA 3 not shown); pp, perforant path; mf, mossy fibers; fim, fimbria.

る。この研究は、神経伝達物質の放出確率が増加することを初めて明確に示したものと目される。続く第II部では、海馬内の神経回路および大脳新皮質との間に生ずる情報の流れについて考察する。さらに、動物実験と臨床例からの知見を取り上げ、行動レベルにおける海馬の働きについて考えてみたい。

II. 海馬における LTP・LTD

シナプスの可塑性は、記憶・学習の基礎過程として様々な角度から研究されてきた。中でも、海馬における長期増強 (Long-Term Potentiation: LTP) の現象は、数多くの研究者の議論が白熱しているテーマである。また、長期抑圧 (Long-Term Depression: LTD) の現象も、海馬において報告されている。現時点 (1990年9月) で、今までの知識を整理するのに必要な実験がいろいろと現れてきたので、ここに詳しく紹介したい。

1) LTP という現象

海馬への興奮性入力に短時間の高頻度刺激 (tetanus) を加えると、興奮性シナプス後電位 (EPSP) が数時間以上にわたって増大する。これが、海馬の歯状回 (dentate gyrus) において Lømo により 1966 年に観察され、Bliss & Lømo (1973) により詳しく報告された LTP である。この現象は、海馬の他の領域のシナプスでも観察される。特に、嗅内野 (entorhinal cortex) からの貫通線維 (perforant path) が歯状回の顆粒細胞 (granule cells) に作るシナプスと、同側 CA 3 野の Schaffer 側枝 (Schaffer collaterals) および対側 CA 3 野の交連線維 (commissural fibers) が CA 1 野錐体細胞 (pyramidal cells) に作るシナプスが、最も一般的に研究されている LTP のシステムである (Fig. 1C)。LTP の典型的な例を、Fig. 2 に示す。10 秒に 1 回程度の間隔でテスト刺激を与えて EPSP を測定する。短時間の高頻度刺激 (数十

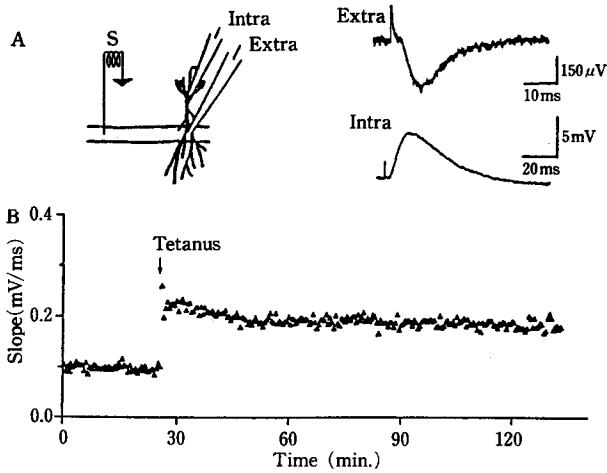


Fig. 2 LTP in the CA1 Region of the Hippocampus. A) Left Panel, a diagram of the position of the stimulating (S) and recording (Intra, intracellular; Extra, extracellular) microelectrodes. Right Panel, examples of extracellular and intracellular recordings. (From Kauer et al. 1988 b) B) The initial EPSP slope recorded extracellularly is plotted against time. The test stimulus was given every 10 sec. To elicit LTP, a 100 Hz tetanus for 1 sec was delivered twice separated by 20 sec. The stimulus intensity was doubled during the tetani. (From Nicoll et al. 1988)

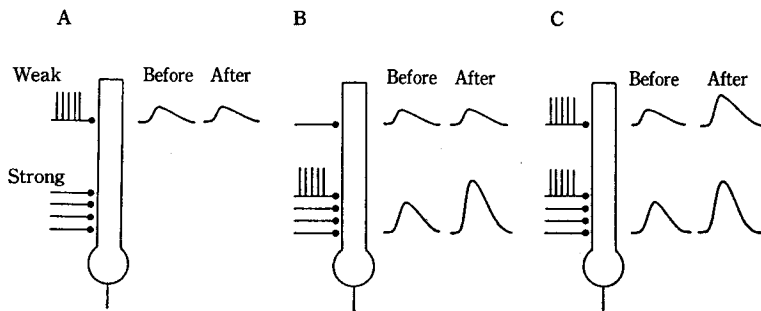


Fig. 3 Associativity of LTP. A) A single neuron is shown receiving weak and strong synaptic inputs. Tetanic stimulation of the weak input does not cause LTP in the pathway (compare the EPSP before and after tetanus). B) Tetanic stimulation of the strong input alone does cause LTP in the strong pathway, but not in the weak one. C) Tetanic stimulation of both the strong and the weak pathways together causes LTP in the weak pathway. (From Nicoll et al. 1988)

Hz で数秒程度) を与えると、細胞内および細胞外での記録の両方で、EPSP の持続的な増大を観察することができる。歯状回の顆粒細胞からの苔状線維 (mossy fibers) が CA3 野錐体細胞に作るシナプスにおいては、歯状回や CA1 のものと全く異なった性質の LTP が生ずるが、これについては第7節で述べることにする。

CA1 および歯状回における LTP の最も顕著な特徴は、入力特異性 (input specificity) と、連合性 (associativity) である。入力特異性とは、高頻度刺激を受けたシナプスにのみ LTP が発現するということである (Dunwiddie & Lynch 1978)。この性質は、入力を受けたシナプス部位に局限した変化が LTP の原因であることを示唆する。また、2つの入力間における連合性とは、単独では LTP を起こさない弱い入力も、別の入力の高頻度刺激と同時に刺激を受けたときのみ増強されるということである (Levy & Steward 1979)。Fig. 3 に示すように、1つのニューロンが弱い入力 (Weak) と

強い入力 (Strong) を受けているとしよう。弱い入力の高頻度刺激だけでは LTP が生じない (Fig. 3 A)。強い入力の刺激だけを与えると、このシナプスには LTP が生ずるが、入力特異性により、弱い方のシナプスには変化がない (Fig. 3 B)。しかし、両方の入力に高頻度刺激を加えると、弱い入力のシナプスでも LTP が生ずるようになる (Fig. 3 C)。入力特異性と連合性は、記憶の形成に必要な連合学習の素過程に相当するという点において、注目に値する性質である。

2) LTP の誘発過程

LTP の過程は、大きく3つの段階に分けて考えることができる (Brown et al. 1988)。第1段階は誘発 (induction) の過程であるが、これは、LTP を引き起こすのに必要な一過性の変化を指す。次に、これを長期的なものに変換するための維持 (maintenance) の過程が続く。そして、最終的な LTP の発現 (expression) の段階に至る。

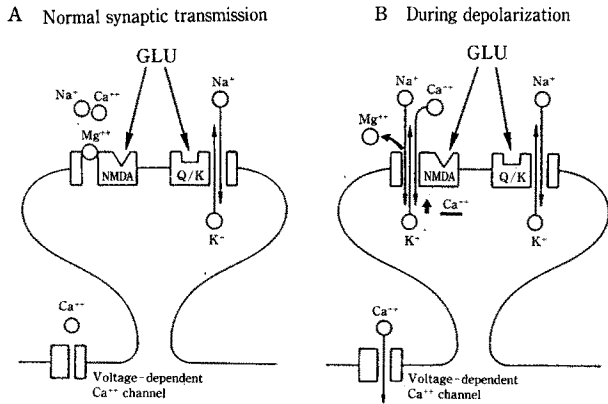


Fig. 4 Model for the LTP Induction in the CA 1 Region of the Hippocampus. A) The events occurring during low-frequency synaptic transmission. L-glutamate (GLU) is released from the presynaptic terminal and acts on both the NMDA and non-NMDA (Q/K) type of receptors. Na^+ and K^+ flow through the Q/K receptor channel, but not through the NMDA receptor channel, due to Mg^{2+} block of this channel. B) The events occurring when the postsynaptic membrane is depolarized, as would occur during a high-frequency tetanus. The depolarization relieves the Mg^{2+} block of the NMDA channel, allowing Na^+ , K^+ , and most importantly Ca^{2+} to flow through the channel. The rise in Ca^{2+} in the dendritic spine provides a trigger for subsequent events leading to LTP. (From Nicoll et al. 1988)

誘発過程については、既にその分子機構が明らかにされている (Collingridge & Bliss 1987, Gustafsson & Wigström 1988, Malenka et al. 1989 b, 山本 1990)。この機構には、シナプス後膜の N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体チャネルの特性が本質的である。シナプス前終末から放出された伝達物質 (L-glutamateらしい) が NMDA 受容体作用して、高頻度刺激によりシナプス後細胞が十分に脱分極すると、静止膜電位で見られる Mg^{2+} によるチャネルの閉塞が解除され、 Ca^{2+} が細胞内に流入する (Fig. 4)。この過程が LTP に不可欠であることの1つの証拠は、NMDA 受容体の特異的な拮抗剤である D-2-amino-5-phosphonovalerate (APV) が、シナプス伝達に影響を与えずに LTP を阻害することである (Collingridge et al. 1983)。この分子機構により、第1節で述べた LTP の連合性が説明できる。他の入力に高頻度刺激を加えることによって後細胞の十分な脱分極が得られれば、弱い入力に対しても Ca^{2+} の細胞内流入が可能になって、連合性の LTP が生ずるであろう (Kelso et al. 1986)。

また、CA 1 のスライス標本 (脳よりシナプスの機能を保持したまま取り出した切片) を用いることにより、シナプス後細胞の Ca^{2+} をキレートすると LTP が阻害されることが示されている (Lynch et al. 1983)。Malenka et al. (1988) は、 Ca^{2+} をキレートさせた nitr-5 (紫外光を照射すると Kd 値が 145 nM から 6.3 μM に変化して Ca^{2+} を遊離する物質) をシナプス後細胞に注入して Ca^{2+} 濃度を増加させることにより、EPSP が増大することを示した。従って、LTP を引き起こすために、 Ca^{2+} がセカンド・メッセンジャーとしての役割を果たしていると言うことができよう。

3) LTP の発現に関する3つの説

それでは、これに続いて LTP の発現に至る過程は、

どのようなものであろうか。残念ながら、この問題に関しては、共通理解のある答えがまだ得られていない。よく、LTP はシナプス前終末起源かシナプス後細胞起源かと言われるが、LTP のどの段階について問題にしているのかを明確にしないと、混乱を招き易い。LTP の誘発の過程については、第2節で述べたように、シナプス後細胞起源である。これに対し、発現の過程に関しては主に3つの説があって、目下、議論紛糾中である。第1の説は、シナプス前終末起源をとり、神経伝達物質の放出量が増加することを主張する。第2の説は、シナプス後細胞起源をとり、伝達物質に対する感受性が増大することを主張する。第3の説は、この両方が共に起こるとするもので、異なる時間経過で生ずる可能性もある。他に、シナプス構造の変化等を議論する説もあるが、LTP に伴う副次的効果と区別するのは難しい。ここでは、発現に関する諸説をそれぞれ検討することから始める。

4) シナプス後細胞起源説

ほとんど期を同じくして、2つの同様な報告が現れた (Muller et al. 1988, Kauer et al. 1988 b)。どちらも、ラットの CA 1 のスライス標本を用いている。シナプス後細胞の興奮性シナプスの大部分には、2種類の L-glutamate 受容体チャネル、すなわち NMDA 型と非 NMDA 型 (kainate/quisqualate) が共存していると考えられている (Bekkers & Stevens (1989) によって確証が得られた)。これらの実験では、非 NMDA 受容体の拮抗剤である 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX) または 6,7-dinitroquinoxaline-2,3-dione (DNQX) が用いられているが、この存在下でも LTP の誘発は阻害されない。LTP を起こす刺激を与え、 Mg^{2+} 閉塞の効果を軽減した条件下において、EPSP の NMDA 成分 (CNQX の存在下で観察され、APV によって阻害される) には、一過性のテタヌ後増強が現れる他に変化が

見られなかった。そこで、非 NMDA 成分のみが長期的に増強される結果 LTP が生ずると、彼らは結論した。Kauer et al. (1988 b) は、この薬理作用に加えて、脱分極した条件での EPSP の時間成分を調べ、同じ結論を出している。もし L-glutamate の放出量が増加したとすると、NMDA・非 NMDA の両方の成分を同時に変化させるはずであるから、この実験事実は、シナプス前終末起源説には不利な証拠である。むしろ、シナプス後細胞における感受性の増大によって無理なく説明される。しかし、非 NMDA 受容体を選択的に活性化するような因子が増加するといった、前終末起源説で説明する可能性も残っている。

5) 折衷説および protein kinase の関与

Davies et al. (1989) は、CA1 のスライス標本において、非 NMDA 受容体のアゴニスト (quisqualate または AMPA) を局所的に電気泳動で投与することにより、シナプス後細胞の感受性が LTP に伴って増大することを示した。この変化は、LTP 誘発後 15 分以上経たないと検出できず、ピークに達するのに 2 時間もかかるという。従って、この間はシナプス前終末起源の維持過程が起こっており、その後シナプス後細胞起源の過程が生ずると彼らは考えている。しかしこの方法では、増強を受けるシナプス部位とそれ以外での受容体の反応が分離できていないので、この折衷説はまだ仮説の域を出ない。

Kauer et al. (1988 a) は、LTP が時間経過の異なる 2 つの過程を含むということを主張している。これは、NMDA や glutamate を局所的に投与した場合、40 分以内で減衰する増強効果しか得られないという事実に基づいている。LTP の完全な発現には、シナプス前終末から放出される別の因子が必要なのかもしれない。この因子が、前述のように非 NMDA 受容体を選択的に活性化すると考えることもできる。しかし、NMDA の投与だけでは細胞内の Ca^{2+} 濃度が十分に上がらないといった可能性も否定できない (Malenka et al. 1989 b)。

Malinow et al. (1988) は、protein kinase の阻害剤である H-7 または sphingosine を予め外液中に加えておくと、EPSP の増強が 30 分程度で減衰してしまうことを報告している。この他にも、protein kinase が LTP に関与するという報告は多数あるのだが、その反証を示す実験も目につくようになってきた。phorbol ester (protein kinase C の賦活剤) によって EPSP の増大が起こるが、このシナプス増強は LTP と独立なものであるという考えもある。Muller et al. (1990) は、外液中の H-7 による EPSP の減弱が、高頻度刺激で与

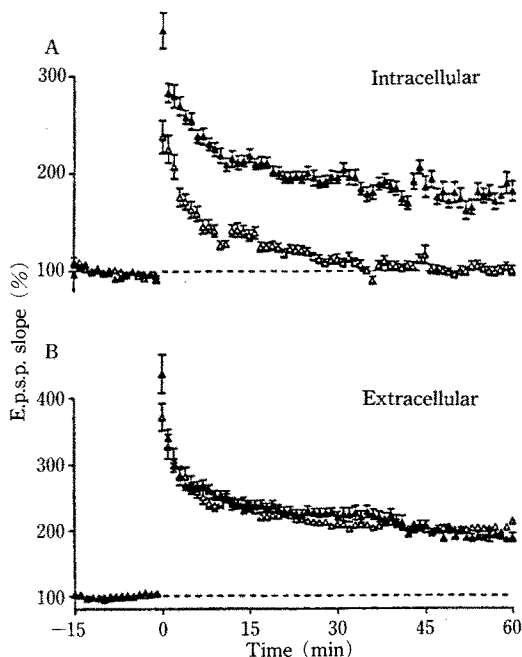


Fig. 5 Effect of Intracellular Application of the CaM-binding Peptide (CBP) on LTP. A) The magnitude of the initial EPSP slope in populations of cells recorded with microelectrodes containing either CBP (190 μ M, open triangles) or the control peptide CTP₂ (190 μ M, filled triangles). Tetanic stimulation was given at time 0. B) The initial field EPSP slope recorded in the two populations demonstrating that the LTP was essentially identical in the two populations. (From Malenka et al. 1989 a)

えていない対照群でも起こりうることを示して、LTP の発現に対する H-7 の阻害効果を否定している。H-7 や sphingosine は、protein kinase に対する選択性が低いように、前終末と後細胞のどちらに作用しているかが不明である。protein kinase の寄与について議論するには、LTP のどの段階に作用するのかを明確にするような実験が是非とも必要である。

最近、この問題点が克服されつつある。Malenka et al. (1989 a) は、calmodulin の拮抗剤であり Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II (CaM-K II) によるリン酸化を特異的に阻害する合成ペプチド (CBP: IC_{50} = 90 nM) を、CA 1 野錐体細胞に注入することにより、H-7 を注入したときと同様な LTP の阻害効果を得た。Fig. 5 A は、CBP が記録電極中に存在するときに、細胞内記録で LTP が阻害されることを示したものである。CBP の代わりにコントロール用のペプチド (CTP₂: IC_{50} = 170 μ M) を用いたときは LTP が生ずる。Fig. 5

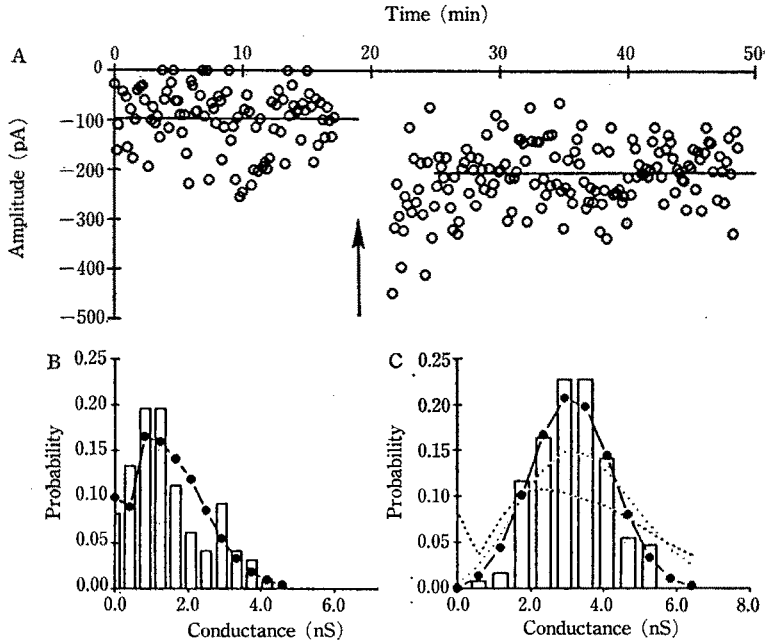


Fig. 6 LTP Expression on a Pair of Rat Hippocampal Pyramidal Neurons in Dissociated Culture. A) Plot of peak EPSC amplitude against time. The arrow indicates the time at which the sequence of tetani was applied. The straight lines through the data points represent mean amplitudes over the time windows indicated by the horizontal positions of the lines. B) Control pre-tetanus histograms of EPSC conductance. The filled circles represent a binomial distribution fitted as described in the text. C) Post-tetanus histograms. The filled circles were calculated from the distribution in B assuming an increase in p , with N and α unchanged. The dotted line and the broken line were calculated assuming an increase in N and in α , respectively. An accurate quantal analysis must take the fluctuations in the miniature EPSC size into account, as expressed in the second term of the equation for v . This variability in quantal size has been shown to arise predominantly from variability within a single bouton (Bekkers et al. 1990). (From Bekkers & Stevens 1990)

Bは、これと同時に細胞外で記録した EPSP で、両方の場合に LTP が同程度起こりうることをモニターしたものである(細胞内記録をしている細胞の周囲にある細胞群に、LTP が生じている)。さらに Malinow et al. (1989) は、同様の手法により、 Ca^{2+} /diacylglycerol-dependent protein kinase (protein kinase C: PKC) を特異的に阻害する合成ペプチドを用いて、上と同様な LTP の阻害効果を確認した。しかもこれらの阻害剤は、すでに LTP が起こっている後細胞に対しては効果がなかった。また、活性化 PKC を直接後細胞に注入しても、EPSP の増大が得られるという (Hu et al. 1987)。以上の知見により、LTP の誘発に続く、CaM-KII と PKC の関与するシナプス後細胞での過程が示唆される。

6) シナプス前終末起源説

次に、シナプス前終末起源説を検討する。Skrede & Malthe-Sørensen (1981) の実験では、海馬 CA 1 のス

ライス標本に D- ^{3}H aspartate (シナプス前終末に取り込まれて L-glutamate の代わりに放出される) を前投与したところ、高頻度刺激に伴ってその放出量の増加が認められた。Dolphin et al. (1982) は、麻酔下のラットの海馬歯状回に push-pull カニューレを置き、 ^{3}H glutamine より新たに合成された ^{3}H glutamate の放出を調べたところ、LTP の誘発の後に続く増加を確認した。さらに Bliss et al. (1986) は、同様な実験系で、HPLC を用いて直接 glutamate の濃度を測定することにより、上の結果を追試した。この論文には、脳における素量解析の手法が可能になって初めて、伝達物質放出の増大と LTP との間の因果関係が証明されるはずだと述べられている。これに続く論文では、LTP に伴う glutamate の放出量の増加が、APV によって阻害されることが示されている (Errington et al. 1987)。

ごく最近になって、素量解析を用いた2つの独立した

報告が現れ、LTPに伴う伝達物質の放出量の増加が明らかになった (Malinow & Tsien 1990, Bekkers & Stevens 1990)。こうした直接的な実験が中枢神経系においてこれまで困難であった理由は、ニューロンが多数のシナプスを持つうえに、細胞内記録に使われる高い抵抗の電極では、信号とノイズの分離が悪かったことにある。低い抵抗のパッチ電極を用いる技術が進歩したこと、最小の刺激で単一シナプスのみを調べる努力が実って、海馬のスライス上での素量解析が可能になった。素量解析では、離散的な素量 (1つのシナプス小胞内にある伝達物質の数千分子の塊) を単位とする放出の過程が確率的であることに基づいて、3つの変数が問題となる。それは、素量の総数 N 、素量が放出される確率 p 、単一の素量に対する反応の大きさ (シナプス後電流の大きさ) a である。これらの値が増加することは、シナプス伝達の効率が増すことを意味する。実際に観測されるシナプス後電流 (EPSC) の平均値 m および分散値 v は、二項分布を仮定すると、次のように表される (Bekkers & Stevens 1990)。

$$m = aNp$$

$$v = a^2Np(1-p) + a^2Npc^2$$

ここで c_m は、miniature EPSC の変動係数である (詳しくは Fig. 6 の説明文を参照のこと)。Malinow & Tsien (1990) は、CA1 のスライス標本において、前終末起源である N または p が LTP の前後で変化することを示し、刺激があるのに素量の全く放出されない確率が LTP の後で減少することを見出した。さらに Bekkers & Stevens (1990) は、海馬の錐体細胞を低密度で培養することにより、EPSC の確率分布が二項分布に当てはまるという結果を得て、 p のみが変化することを証明した。Fig. 6A は、EPSC の振幅の時間変化を記録したもので、高頻度刺激の後に LTP が生ずることと、確率的な振幅の変動を見ることができる。Fig. 6B と Fig. 6C は、それぞれ高頻度刺激の前と後での EPSC コンダクタンスの確率分布である。上式に基づいて計算した理論曲線がプロットされている。Fig. 6C においては、 p のみが増加したと仮定したときの分布曲線が、最も良く測定値と合致している。以上の結果は1時間半以上にわたって不変であり、後から後細胞側の寄与が増大しているわけではない。従って、LTP の発現は、主としてシナプス前終末起源であると結論している。

LTP の発現過程 (expression) が伝達物質放出の増大にあるならば、シナプス後細胞に生じた誘発過程 (induction) の結果として、その情報をシナプス前終末まで逆向きに伝えるような物質 (これを逆行性メッセン

ジャーと呼ぶ) が存在しなければならない。つまり、後細胞から逆行性メッセンジャーが放出されるまでの過程と、前終末でこれを受け取って伝達物質の放出量を変化させる過程の両方が必要となる。逆行性メッセンジャーをシナプス前終末に与えると、それだけで LTP が発現するのだろうか。また、このメッセンジャーは、短時間に一定量放出されれば良いのか、それとも維持過程 (maintenance) の間持続的に放出されなくてはならないのか。こうした問題に対しては、今のところ明確な証拠は何もない。arachidonic acid は、逆行性メッセンジャーの一候補とされてきたが、これを単独で加えたときはむしろ EPSP の抑圧が生じる。そして、LTP を起こさない程度の高頻度刺激と組み合わせると、arachidonic acid を除いた後にゆっくりとした増強が現れるという (Williams et al. 1989)。シナプス前終末起源説が確立するためには、このような遅延性の効果ではなく、LTP 誘発の直後に作用するメッセンジャーの同定が鍵となるであろう。

以上見てきたように、矛盾しているように思える実験事実や不明な点が今なお残されている。特にスライス標本の実験では、温度や外液の成分、および刺激条件などの違いに注意を払う必要がある。例えば、温度条件や反応の Q 値の知識がなければ、反応性の時間変化の議論は困難である。今後の発展に期待したい。

7) CA3 における LTP の特異性

CA3 野錐体細胞は、主に2種類の解剖的に異なった興奮性入力を受ける (他に貫通線維等の入力もある; 石塚 1989)。第1に、同側および対側の CA3 野錐体細胞からの連合・交連線維 (associational-commissural fibers) である。これが作るシナプスにおいては、第1節で述べたのと同様な特徴を持った LTP が生ずる。第2の入力は、歯状回からの苔状線維である。これの作る en passant 型のシナプスは、透明層 (stratum lucidum) の頂上樹状突起基部に位置するが、いろいろな点で第1のものとは異なっている。まず数が極端に少なく、直径が $5 \mu\text{m}$ 以上もある巨大な前終末構造をとっている。さらに、NMDA 受容体が脳の他の場所と比べて例外的に少なく、非 NMDA 受容体が大部分を占めている (Monaghan et al. 1983, Monaghan & Cotman 1985)。またこれに対応するように、苔状線維 (mossy fibers) のシナプスで見られる LTP (mfLTP と略す) は、APV によって阻害されない (Harris & Cotman 1986)。

それでは、mfLTP の特徴はどのようなものであろうか。Zaltsky & Nicoll (1990) は、単一の CA3 野錐体細胞上で記録を行い、上記2種類の入力線維をそれぞれ

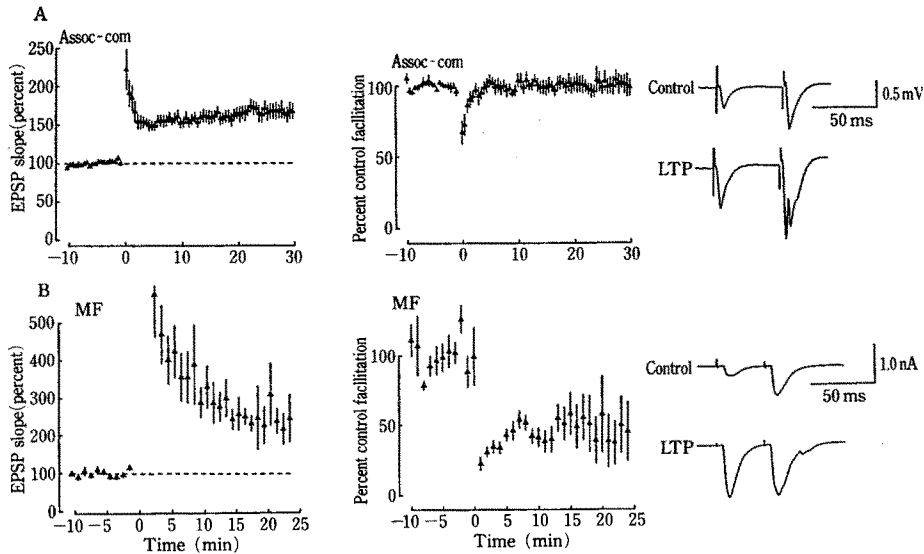


Fig. 7 Interaction of mfLTP with the Presynaptic Phenomenon of Paired-Pulse Facilitation. A) Paired pulses at 50-msec intervals were given to the associational-commissural pathway while field potentials were recorded. Left panel, LTP for the first pulse; Middle panel, paired-pulse facilitation expressed as a ratio of the two pulses normalized to the control period before the tetanus; Right panel, Sample records taken before and 15 min after LTP was induced. B) Paired pulses at 50 to 80-msec intervals were given to the mossy fiber pathway while whole-cell recording was performed. There was a clear reduction in paired-pulse facilitation during mfLTP. (From Zaltsky & Nicoll 1990)

刺激しながら、mfLTP と通常の LTP を詳しく比較している。それによると、シナプス後細胞の Ca^{2+} をキレートしても、また同時に後細胞の膜電位を過分極側で固定しても、mfLTP が起こるといふ。mfLTP の誘発は、後細胞の脱分極を必要とせず、一定の刺激の数にのみ依存することが判明した。従って、mfLTP は連合性そのものを欠いた特異的な LTP である。後細胞側の入力の情報が不必要となると、1本の苔状線維の高頻度刺激で、そのすべての終末が共に増強されるのであろうか。

また、mfLTP の分子機構は一体どうなっているのだろうか。山本氏らは、この系に素量解析を適用する方法を既に確立している (Yamamoto 1982, 山本 1988)。Staubli et al. (1990) および Zaltsky & Nicoll (1990) は、paired-pulse facilitation なる現象と mfLTP との関係調べた。この現象は、100 ms 程度の間隔の刺激を2発与えたとき、2度目の EPSP の方が1度目よりも大きくなるというもので、伝達物質の放出量の増加 (シナプス前終末起源) によって説明される (Zucker 1989)。LTP においては、その前後で (LTP 誘発の直後は除いて) paired-pulse facilitation の効果に変化の見られないことが歯状回で既に知られていた (McNaugh-

ton 1982)。連合・交連線維入力の LTP においても、この事が当てはまる (Fig. 7 A)。しかし、この事実のみから、LTP が後細胞起源だと結論を下すことはできない。正しくは、LTP が paired-pulse facilitation と独立な反応過程であると考えなくてはならない。一方、mfLTP では、その前後で paired-pulse facilitation の減少効果が認められた (Fig. 7 B)。この事実に基づいて、mfLTP の発現がシナプス前終末起源であると、彼らは結論している。mfLTP についてはその誘発過程からして未知であるので、この分子機構の解明は、今後に残された問題の1つである。

8) 海馬における LTD

小脳における LTD は、Purkinje 細胞に登上线維の入力とほぼ同期して平行線維の入力を送り続けると、平行線維と Purkinje 細胞間の伝達効率が長期的に低下するものである (Ito 1989, 伊藤 1989)。海馬においては、これとは異なる性質の LTD が観察されている。ここでは、heterosynaptic LTD および associative LTD と呼ばれる現象を扱うが、この両者の関係はまだ明らかになっていない。海馬 LTD の分子機構は、研究が始まったばかりであり、LTP との関連を議論する立場から多くの関心を集めている。

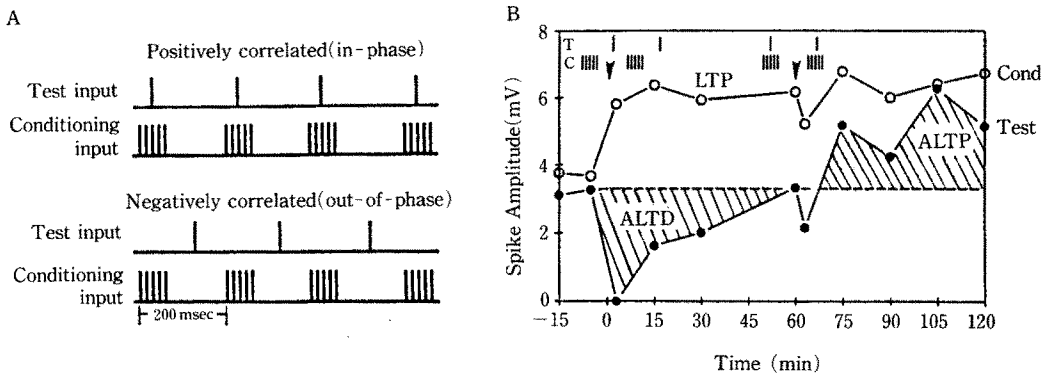


Fig. 8 Associative LTD and LTP. A) Schematic diagram of stimulus paradigms used. Conditioning input stimuli, four trains of 100-Hz bursts, each train lasting for 2 sec. Each burst had 5 stimuli and the interburst interval was 200 msec. Test input stimuli, four trains of 5-Hz shocks, each train lasting for 2 sec. B) Time course of the changes in population spike amplitudes. Inset (top) shows the stimulus patterns for the test (T) and conditioning (C) inputs, and arrow heads show the time of stimulation. Single responses from the conditioning input (open circles) show that stimulation elicited synapse-specific LTP, independent of other input activity. Single responses from the test input (filled circles) show that out-of-phase stimulation produced associative LTD (ALTD), whereas in-phase stimulation elicited associative LTP (ALTP). (From Stanton & Sejnowski 1989)

Lynch et al. (1977) は、CA1 のスライス標本における細胞外記録で、heterosynaptic depression (異シナプス性抑圧) の現象を明らかにした。これは、CA1 野錐体細胞の2種類の入力線維において、一方にのみ LTP を起こすと、他方の入力に対する伝達効率が15%以上にわたり持続的に減少するというものである。同様の現象は歯状回においても観察される (Levy & Steward 1983)。しかし、この抑圧効果が長時間続くかどうかは議論の分かれるところであった。Abraham & Goddard (1983) は、麻酔したラットの歯状回において3時間以上続く heterosynaptic depression を観察し、これを heterosynaptic LTD と呼んでいる。また、高頻度刺激を与える入力側で必ずしも LTP が起こらなくてもよいという。

Stanton & Sejnowski (1989) は、CA1 のスライス標本を用いた実験 (刺激する入力線維は Lynch et al. (1977) と異なる) で、associative LTD (連合性長期抑圧) を明らかにした。2つの入力に対してそれぞれ高頻度の条件刺激と低頻度のテスト刺激を短時間与える際に、それらが同位相であれば LTP が生じ、逆位相であれば、テスト刺激を受けた方の入力に対してのみ LTD が生ずるという (Fig. 8)。この associative LTD は、APV によって抑制を受けず、最低 30 分以上3時間まで続く。さらに細胞内記録を用いて、シナプス後細胞を過分極にしながらか 5 Hz の刺激を与えたところ、LTD が観察された。従って、シナプス前終末の活性化と過分

極が、associative LTD の誘発には十分であり、NMDA 受容体の活性化は必要ではないと彼らは結論している。

CA3 のスライス標本においては、Chattarji et al. (1989) による報告がある。苔状線維に高頻度の条件刺激を、連合・交連線維に低頻度のテスト刺激を与えるとき、連合・交連線維のシナプス上で LTP (同位相の時) および LTD (逆位相の時) が生ずる。しかしこれとは逆に、苔状線維のテスト刺激と共に連合・交連線維に条件刺激を与えたところ、苔状線維のシナプスには、連合性の LTP および LTD が観察されなかったという。彼らの論文では、条件刺激を単独で与えたときの記録が示されていないので、heterosynaptic depression の効果が、associative LTD と分離できているかどうかは疑問である。そもそも苔状線維のシナプスで LTD が観察できるかという問題点を含めて、追試が必要である。

9) LTP と LTD の関係

このように、LTP や LTD の性質が次第に解明されつつある現状だが、今後新しい種類の LTP や LTD が発見される可能性もある。そうすると、同じシナプス上でどのタイプの LTP と LTD が共存するか、ということが問題になってくる。これらが神経回路内のどの部分に配置されているのかを知らなければ、海馬の正しいモデルは作れないだろう。従って、LTP および LTD の発現に必要な条件を明らかにした上で、その分子機構を統一的な観点から説明する必要がある。

大脳新皮質においても、海馬の CA1 および歯状回と

同様な LTP が生ずる (Komatsu et al. 1981, 1988, Artola & Singer 1987, 1990, Kimura et al. 1989, 津本 1990)。Artola et al. (1990) は、ラット視覚皮質のスライス標本において、入力特異性と連合性をもつ LTD を報告している。それによると、シナプス後細胞の脱分極の度合によって、同じ高頻度刺激が LTP か LTD を引き起こすことができるという。つまり膜電位が第1のレベルを越えると LTD が生じ、さらに第2のレベル以上では LTP が起こる。LTD の誘発は LTP と同じく後細胞起源であるが、LTD は APV の存在下でも生ずるので、NMDA 受容体を介さないものと考えられる。新皮質では抑制性のシナプス結合が強いので、LTD の誘発には脱分極が必要なのであるが、海馬ではむしろ過分極にしなくては LTD が生じないのであろうか。海馬と大脳新皮質の可塑シナプスには、基本的に共通な機構が使われているものと我々は考えている。今後の研究により、普遍的な分子機構が明らかにされることを期待したい。

10) 記憶保持の分子機構

LTP や LTD の発現が長期的なシナプスの変化を引き起こすとすると、この分子レベルの「記憶痕跡」は、どの様にして保持され続けるのだろうか。ここでは、LTP や LTD を含めた一般的なシナプス可塑性の枠組みの中で、記憶情報を保持するための分子機構について議論する。

短期的(数分から数時間程度)な記憶保持の機構は、新たなタンパク質の合成を必ずしも要求しないと考えられる。その例として、無脊椎動物 (*Aplysia* や *Drosophila*) を用いた学習行動の研究により、cAMP 等のセカンド・メッセンジャーを介したタンパク質の修飾機構が明らかにされてきた (Kandel & Schwartz 1982, Dudai 1988)。このセカンド・メッセンジャー系に必要な酵素は、神経伝達物質により、その受容体を介して賦活化される。

生体分子の新陳代謝に対して安定に記憶情報を保持するための機構として、例えば分子スイッチ説がある (Crick 1984, Lisman 1985)。このモデルの想定するタンパク質は、リン酸化等の修飾により活性状態 (ON) か不活性化状態 (OFF) のいずれかをとり、OFF の時に一定強度以上の外部刺激に応じた修飾を受けると、ON の状態となる。自己リン酸化の機構があれば、サブユニットの更新や刺激の有無に関わらず ON 状態を保持し続けることができる。Lisman & Goldring (1988) は、CaM-K II がこのような性質を満たしていることに注目して、Ca²⁺ の濃度に依存したスイッチ機構を提唱している。

シナプスの重みが、ON 状態にある一群の CaM-K II 分子の数によって、長期的に保持されることがわかる。さらに Lisman (1989) は、シナプスの重みの増減を可能にする包括的なモデルを作り上げた。これによると、細胞内の Ca²⁺ 濃度で CaM-K II のリン酸化・脱リン酸化の度合が変化して、両方向性の制御を行うことが可能である。Ca²⁺ 濃度に2つのレベルがあるという考え方は、第9節で紹介した Artola et al. (1990) の結論と類似している。しかしながら、記憶保持のための過程が、このモデルで仮定しているようにシナプス後細胞で起こるかどうかは明らかでない。シナプス前終末における反応系も同時に検討する必要がある。

より長期的な記憶情報の保持には、遺伝子発現による制御機構が必要であろう (Goelet et al. 1986)。学習過程の途中およびその直後におけるタンパク質合成が長期的な記憶に必須なものであることは、既に行動実験等から指摘されてきた (Davis & Squire 1984)。この事は、*Aplysia* の培養神経細胞を用いた実験において、細胞レベルで確かめられている (Montarolo et al. 1986)。in vitro の培養系は、細胞の外部環境を人為的に制御しながら長期間の観察が可能であるので、こうした遺伝子発現の解析に有効である (酒井・堀田 1989)。in vivo の実験例としては、麻酔下のラットの貫通線維に高頻度刺激を与えることにより、転写調節因子をコードすると考えられている immediate early gene の mRNA レベルが増大することが報告されている (Cole et al. 1989)。しかもこの変化は LTP に伴って起こり、NMDA 受容体の拮抗剤で阻害されるという。今後、このような遺伝子レベルでのシナプス可塑性の調節機構が、活発に研究されるであろう。

ヒトの脳において、記憶情報がどの位の時間保持されるかという疑問は、逆行性健忘等のメカニズムを考えるうえで重要な問題である。海馬と大脳新皮質では、記憶情報の処理の仕方や保持時間に差があるかもしれないが、分子レベルで共通の機構に基づきながらも、神経回路として異なる働きを持つということは十分可能である。また、単に記憶情報を長く保持するだけではなく、状況によっては、不必要な情報を消去あるいは更新しなくてはならないこともある。シナプスの伝達効率の変化が、増加と減少の両方向性を持ちうるということは、機能素子としての重要な役割を意味しているのに違いない。

以上のように、分子レベルでの研究における近年の進歩は、まさに目を見張るものがある。近い将来、LTP や LTD の分子機構に関しては、その大筋が理解されるよ

うになるだろう。しかし、それが実現したとしても、まだ記憶の問題は解決していない。それは、海馬が LTP や LTD を用いてどのような情報処理を行っているのかが依然として不明だからである。個々の文字が読めても、単語の意味や文法がわからなければ文章は読めない。脳における神経回路の意味や、その相互の関係が明らかにならなければ、記憶についてわかったとは言えない。続く第Ⅱ部では、神経回路のレベルから始めて、記憶という脳の高次機能について考えてみることにしたい。

文 献

- 石塚典生：海馬皮質の構造と問題点。脳神経 41：753-770, 1989
- 伊藤正男：大脳と小脳。生体の科学 40：82-89, 1989
- 宮下保司：海馬の機能。科学 55：423-432, 1985
- 酒井邦嘉，堀田凱樹：ショウジョウバエ初期胚培養系における神経発生。実験医学 7：905-910, 1989
- 津本忠治：視覚野の可塑性の分子メカニズム。実験医学 8：1560-1566, 1990
- 山本長三郎：海馬のシナプス長期増強。神経進歩 32：605-616, 1988
- 山本長三郎：神経回路の可塑性。蛋白質核酸酵素 35：1161-1169, 1990
- Abraham WC, Goddard GV：Asymmetric relationships between homosynaptic long-term potentiation and heterosynaptic long-term depression. Nature 305：717-719, 1983
- Artola A, Singer W：Long-term potentiation and NMDA receptors in rat visual cortex. Nature 330：649-652, 1987
- Artola A, Singer W：The involvement of N-methyl-D-aspartate receptors in induction and maintenance of long-term potentiation in rat visual cortex. Eur J Neurosci 2：254-269, 1990
- Artola A, Bröcher S, Singer W：Different voltage-dependent thresholds for inducing long-term depression and long-term potentiation in slices of rat visual cortex. Nature 347：69-72, 1990
- Bekkers JM, Stevens CF：NMDA and non-NMDA receptors are co-localized at individual excitatory synapses in cultured rat hippocampus. Nature 341：230-233, 1989
- Bekkers JM, Stevens CF：Presynaptic mechanism for long-term potentiation in the hippocampus. Nature 346：724-729, 1990
- Bekkers JM, Richerson GB, Stevens CF：Origin of variability in quantal size in cultured hippocampal neurons and hippocampal slices. Proc Natl Acad Sci USA 87：5359-5362, 1990
- Bliss TVP, Lømo T：Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. J Physiol (Lond) 232：331-356, 1973
- Bliss TVP, Douglas RM, Errington ML, Lynch MA：Correlation between long-term potentiation and release of endogenous amino acids from dentate gyrus of anaesthetized rats. J Physiol (Lond) 377：391-408, 1986
- Brown TH, Chapman PF, Kairiss EW, Keenan CL：Long-term synaptic potentiation. Science 242：724-728, 1988
- Chattarji S, Stanton PK, Sejnowski TJ：Commissural synapses, but not mossy fiber synapses, in hippocampal field CA 3 exhibit associative long-term potentiation and depression. Brain Res 495：145-150, 1989
- Cole AJ, Saffen DW, Baraban JM, Worley PF：Rapid increase of an immediate early gene messenger RNA in hippocampal neurons by synaptic NMDA receptor activation. Nature 340：474-476, 1989
- Collingridge GL, Bliss TVP：NMDA receptors—their role in long-term potentiation. Trends Neurosci 10：288-293, 1987
- Collingridge GL, Kehl SJ, McLennan H：Excitatory amino acids in synaptic transmission in the Schaffer collateral-commissural pathway of the rat hippocampus. J Physiol (Lond) 334：33-46, 1983
- Crick F：Memory and molecular turnover. Nature 312：101, 1984
- Davies SN, Lester RA, Reymann KG, Collingridge GL：Temporally distinct pre- and postsynaptic mechanisms maintain long-term potentiation. Nature 338：500-503, 1989
- Davis HP, Squire LR：Protein synthesis and memory：a review. Psychol Bull 96：518-559, 1984
- Dolphin AC, Errington ML, Bliss TVP：Long-term potentiation of the perforant path in vivo is associated with increased glutamate release. Nature 297：496-498, 1982
- Dudai Y：Neurogenetic dissection of learning and short-term memory in Drosophila. Ann Rev Neurosci 11：537-563, 1988
- Dunwiddie T, Lynch G：Long-term potentiation and depression of synaptic responses in the rat hippocampus：localization and frequency dependency. J Physiol (Lond) 276：353-367, 1978
- Errington ML, Lynch MA, Bliss TVP：Long-term potentiation in the dentate gyrus：induction and increased glutamate release are blocked by D(-)-aminophosphonovalerate. Neuroscience 20：279-284, 1987
- Goelet P, Castellucci VF, Schacher S, Kandel ER：The long and the short of long-term memory—a molecular framework. Nature 322：419-422, 1986
- Gustafsson B, Wigström H：Physiological mechanisms underlying long-term potentiation. Trends Neurosci 11：156-162, 1988

- Harris EW, Cotman CW: Long-term potentiation of guinea pig mossy fiber responses is not blocked by N-methyl-D-aspartate antagonists. *Neurosci Lett* 70: 132-137, 1986
- Hu G-Y, Hvalby ϕ , Walaas SI, Albert KA, Skjeflo P, Andersen P, Greengard P: Protein kinase C injection into hippocampal pyramidal cells elicits features of long-term potentiation. *Nature* 328: 426-429, 1987
- Ito M: Long-term depression. *Ann Rev Neurosci* 12: 85-102, 1989
- Kandel ER, Schwartz JH: Molecular biology of learning: modulation of transmitter release. *Science* 218: 433-443, 1982
- Kauer JA, Malenka RC, Nicoll RA: NMDA application potentiates synaptic transmission in the hippocampus. *Nature* 334: 250-252, 1988 a
- Kauer JA, Malenka RC, Nicoll RA: A persistent postsynaptic modification mediates long-term potentiation in the hippocampus. *Neuron* 1: 911-917, 1988 b
- Kelso SR, Ganong AH, Brown TH: Hebbian synapses in hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA* 83: 5326-5330, 1986
- Kimura F, Nishigori A, Shirokawa T, Tsumoto T: Long-term potentiation and N-methyl-D-aspartate receptors in the visual cortex of young rats. *J Physiol (Lond)* 414: 125-144, 1989
- Komatsu Y, Toyama K, Maeda J, Sakaguchi H: Long-term potentiation investigated in a slice preparation of striate cortex of young kittens. *Neurosci Lett* 26: 269-274, 1981
- Komatsu Y, Fujii K, Maeda J, Sakaguchi H, Toyama K: Long-term potentiation of synaptic transmission in kitten visual cortex. *J Neurophysiol* 59: 124-141, 1988
- Levy WB, Steward O: Synapses as associative memory elements in the hippocampal formation. *Brain Res* 175: 233-245, 1979
- Levy WB, Steward O: Temporal contiguity requirements for long-term associative potentiation/depression in the hippocampus. *Neuroscience* 8: 791-797, 1983
- Lisman JE: A mechanism for memory storage insensitive to molecular turnover: a bistable autophosphorylating kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 82: 3055-3057, 1985
- Lisman J: A mechanism for the Hebb and the anti-Hebb processes underlying learning and memory. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 9574-9578, 1989
- Lisman JE, Goldring MA: Feasibility of long-term storage of graded information by the Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase molecules of the postsynaptic density. *Proc Natl Acad Sci USA* 85: 5320-5324, 1988
- Lynch GS, Dunwiddie T, Gribkoff V: Heterosynaptic depression: a postsynaptic correlate of long-term potentiation. *Nature* 266: 737-739, 1977
- Lynch G, Larson J, Kelso S, Barrionuevo G, Schotter F: Intracellular injections of EGTA block induction of hippocampal long-term potentiation. *Nature* 305: 719-721, 1983
- Malenka RC, Kauer JA, Zucker RS, Nicoll RA: Postsynaptic calcium is sufficient for potentiation of hippocampal synaptic transmission. *Science* 242: 81-84, 1988
- Malenka RC, Kauer JA, Perkel DJ, Mauk MD, Kelly PT, Nicoll RA, Waxham MN: An essential role for postsynaptic calmodulin and protein kinase activity in long-term potentiation. *Nature* 340: 554-557, 1989 a
- Malenka RC, Kauer JA, Perkel DJ, Nicoll RA: The impact of postsynaptic calcium on synaptic transmission—its role in long-term potentiation. *Trends Neurosci* 12: 444-450, 1989 b
- Malinow R, Madison DV, Tsien RW: Persistent protein kinase activity underlying long-term potentiation. *Nature* 335: 820-824, 1988
- Malinow R, Schulman H, Tsien RW: Inhibition of postsynaptic PKC or CaMKII blocks induction but not expression of LTP. *Science* 245: 862-866, 1989
- Malinow R, Tsien RW: Presynaptic enhancement shown by whole-cell recordings of long-term potentiation in hippocampal slices. *Nature* 346: 177-180, 1990
- McNaughton BL: Long-term synaptic enhancement and short-term potentiation in rat fascia dentata act through different mechanisms. *J Physiol (Lond)* 324: 249-262, 1982
- Monaghan DT, Cotman CW: Distribution of N-methyl-D-aspartate-sensitive L-[3H]glutamate-binding sites in rat brain. *J Neurosci* 5: 2909-2919, 1985
- Monaghan DT, Holets VR, Toy DW, Cotman CW: Anatomical distributions of four pharmacologically distinct 3H -L-glutamate binding sites. *Nature* 306: 176-179, 1983
- Montarolo PG, Goelet P, Castellucci VF, Morgan J, Kandel ER, Schacher S: A critical period for macromolecular synthesis in long-term heterosynaptic facilitation in *Aplysia*. *Science* 234: 1249-1254, 1986
- Muller D, Joly M, Lynch G: Contributions of quisqualate and NMDA receptors to the induction and expression of LTP. *Science* 242: 1694-1697, 1988
- Muller D, Buchs P-A, Dunant Y, Lynch G: Protein kinase C activity is not responsible for the expression of long-term potentiation in hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 4073-4077,

- 1990
- Nauta WJH, Feirtag M: The organization of the brain. *Sci Am* 241 (3): 78-105, 1979
- Nicoll RA, Kauer JA, Malenka RC: The current excitement in long-term potentiation. *Neuron* 1: 97-103, 1988
- Skrede KK, Malthe-Sørensen D: Increased resting and evoked release of transmitter following repetitive electrical tetanization in hippocampus: a biochemical correlate to long-lasting synaptic potentiation. *Brain Res* 208: 436-441, 1981
- Sperry RW: Split-brain approach to learning problems. pp 714-722 (Quarion GC, Melnechuk T, Schmitt TC: *The neurosciences: A study program*, The Rockefeller Univ. Press, New York, 1967)
- Squire LR: Mechanisms of memory. *Science* 232: 1612-1619, 1986
- Stanton PK, Sejnowski TJ: Associative long-term depression in the hippocampus induced by hebbian covariance. *Nature* 339: 215-218, 1989
- Staubli U, Larson J, Lynch G: Mossy fiber potentiation and long-term potentiation involve different expression mechanisms. *Synapse* 5: 333-335, 1990
- Williams JH, Errington ML, Lynch MA, Bliss TVP: Arachidonic acid induces a long-term activity-dependent enhancement of synaptic transmission in the hippocampus. *Nature* 341: 739-742, 1989
- Yamamoto C: Quantal analysis of excitatory postsynaptic potentials induced in hippocampal neurons by activation of granule cells. *Exp Brain Res* 46: 170-176, 1982
- Zalutsky RA, Nicoll RA: Comparison of two forms of long-term potentiation in single hippocampal neurons. *Science* 248: 1619-1624, 1990
- Zucker RS: Short-term synaptic plasticity. *Ann Rev Neurosci* 12: 13-31, 1989
-