

## 88. 記憶の想起を促す薬物の作用機構の解明

池谷 裕二

東京大学 大学院薬学系研究科 薬品作用学教室

Key words : 記憶, 想起, ヒスタミン

### 緒言

記憶の忘却は、一度獲得された記憶が見かけ上失われる現象である。多くの研究で用いられている記憶・学習課題であるモリス水迷路試験や恐怖条件づけ試験では、一度獲得された記憶は長時間持続する。特に記憶・学習のメカニズム解明のためによく使用される恐怖条件づけにおいては、恐怖記憶は一度学習すると16か月以上保持されることが示されている<sup>1)</sup>。そのため、記憶・学習に関する研究は、記憶の獲得や固定化など、初期の記憶形成過程に注目したものが多くを占めており、記憶の想起に関する知見は少ない。特に、「忘却された記憶」の想起に関する知見は限られている。本研究は、時間経過に伴う忘却を再現できる物体認識試験を記憶・学習課題として用い、ヒスタミン H3 受容体逆アゴニストが忘却された記憶の想起にもたらす作用、及びそのメカニズムを解明することを目的とした。

### 方法

実験は、全て東京大学大学院薬学系研究科のガイドラインに従い、実験動物への苦痛を最小限に抑えるための最大限の努力のもとに行った。

#### 1. 実験動物

日本 SLC より購入した C57BL/6J (♂) マウスを4匹ずつ、12時間の点灯サイクル、自由摂食・摂水下で飼育した。実験開始までに1週間のハンドリングを行った。行動試験開始時のマウスは8~18週齢であった。行動試験は12:00~17:00の間に、照明点灯下で行った。

#### 2. 物体認識試験<sup>2)</sup>

本試験では、プラスチックの床と壁でできたオープンフィールド (47 cm×47 cm×47 cm) を用いた。マウスをオープンフィールドに入れて探索させることで、実験環境に馴化させた。馴化は1日15分間で、3日間連続して行った。馴化終了の翌日、オープンフィールドにおける隣接した2つの角に、壁から5 cm 離れた位置に2つの同一物体を置いた。マウスをオープンフィールドに入れ、15分間2つの物体を探索させた (トレーニング)。その後、実験の目的に応じて、30分後、2時間後、24時間後、72時間後、7日後のいずれかにおいて、テストを行った。テストでは、トレーニング時に提示したものと同一物体 (既存物体) と、それとは異なる物体 (新規物体) を設置し、マウスを探索させた。マウスは潜在的に新規物体を好む性質を持つため、テスト時には新規物体の方をより多く探索する。このことは、マウスが既存物体についての記憶を保持していることを表している。記憶成績として、次式で算出される判別比を用いた。判別比 = (TN - TF) / (TN + TF)。なお、TN はマウスがテスト時に新規物体を探索した時間 (秒)、TF は既存物体を探索した時間 (秒) を示す。判別比が1の時は、マウスが新規物体のみを探索したこと、-1の時は既存物体のみを探索したこと、0の時は新規物体と既存物体を同じ時間探索したことを表している。実験中のマウスの行動はすべてビデオに録画した。録画した動画を見て、目視でマウスが物体に対して行った探索行動を示した時間 (秒) を測定した。探索行動に関しては、① 物体から5 cm 以内の距離で匂いを嗅いでいる行動、② 前肢で物体に触れている行動を探索行動の指標とみなした。ただし、マウスが物体の上に乗る、及び物体の周りを歩き回る行動は、探索行動とみなさなかった。なお、2つの物体への合計探索時間が5秒以下の場合、データに含めなかった。

## 結 果

まず、トレーニングとテストの間隔 (inter trial interval: ITI) をいくつか設定し、物体認識試験と物体位置認識試験の記憶成績である判別比の違いを検証した。まず物体認識試験においては、ITI が 30 分、2 時間、24 時間、72 時間と長くなるにつれて、判別比が低下した。ITI が 72 時間の群は、30 分の群と比較して判別比が有意に低い値を示した ( $P < 0.05$ )。また、ITI が 30 分、2 時間、24 時間の群は、判別比が有意に 0 より高い値を示した (30 分:  $P < 0.001$ 、2 時間:  $P < 0.01$ 、24 時間:  $P < 0.05$ ) が、72 時間の群では 0 との有意な差は検出されなかった ( $P > 0.05$ )。このことから、ITI が 72 時間になると、マウスが見かけ上は既存物体と新規物体を区別できなくなることが示された。この現象を、便宜上「忘却」と呼ぶ。なお、各群において 2 つの物体への総探索時間を比較したところ、有意な差は検出されなかった ( $P > 0.05$ )。次に、物体位置認識試験においても、ITI が 72 時間の群は 30 分の群と比較して判別比が有意に低い値を示した ( $P < 0.05$ )。また、ITI が 30 分、2 時間、24 時間の群では、判別比は有意に 0 より高い値を示した (30 分:  $P < 0.05$ 、2 時間:  $P < 0.05$ 、24 時間:  $P < 0.01$ ) が、72 時間の群では 0 との有意な差は検出されなかった ( $P > 0.05$ )。なお、各群において、2 つの物体への総探索時間に有意な差は検出されなかった ( $P > 0.05$ )。このことから、ITI が 72 時間になると、物体位置記憶に関しても忘却が起きることが示された。

### チオペラミドが忘却された物体認識記憶の想起に及ぼす影響

次に、H3 受容体逆アゴニストであるチオペラミドが、忘却された記憶の想起に及ぼす効果を検証するために、チオペラミド (10, 20 mg/kg) をテストの 30 分前に腹腔内投与した (図 1)。テスト時の判別比を比較すると、チオペラミドにより用量依存的に判別比の上昇が見られ、チオペラミド 20 mg/kg 投与群では生理食塩水投与群と比較して判別比が有意に高い値を示した ( $P < 0.05$ )。また、チオペラミド投与群において、判別比が 0 より有意に高い値を示した (10 mg/kg :  $P < 0.05$ 、20 mg/kg :  $P < 0.01$ ) が、生理食塩水投与群では 0 との間に有意な差は検出されなかった ( $P > 0.05$ )。なお、各群において、2 つの物体への総探索時間に有意な差は検出されなかった ( $P > 0.05$ )。以上より、ITI が 72 時間の時は、チオペラミドが忘却された記憶を回復させることが示された。

次に、上記で見られたような記憶の回復が、ITI がより長い際にも見られるかを検証するために、ITI を 7 日に設定し、チオペラミド (20 mg/kg) をテストの 30 分前に投与した。その結果、生理食塩水投与群と比較して、チオペラミド投与群で判別比が有意に高い値を示した ( $P < 0.01$ )。また、チオペラミド投与群において、判別比が有意に 0 より高い値を示した ( $P < 0.0001$ ) が、生理食塩水投与群では 0 との間に有意な差は検出されなかった ( $P > 0.05$ )。なお、各群において、2 つの物体への総探索時間に有意な差は検出されなかった ( $P > 0.05$ )。以上の結果より、チオペラミドが忘却された記憶を回復すること、更に、ITI が 7 日間と比較的長い際にもその効果が見られることを明らかにした。

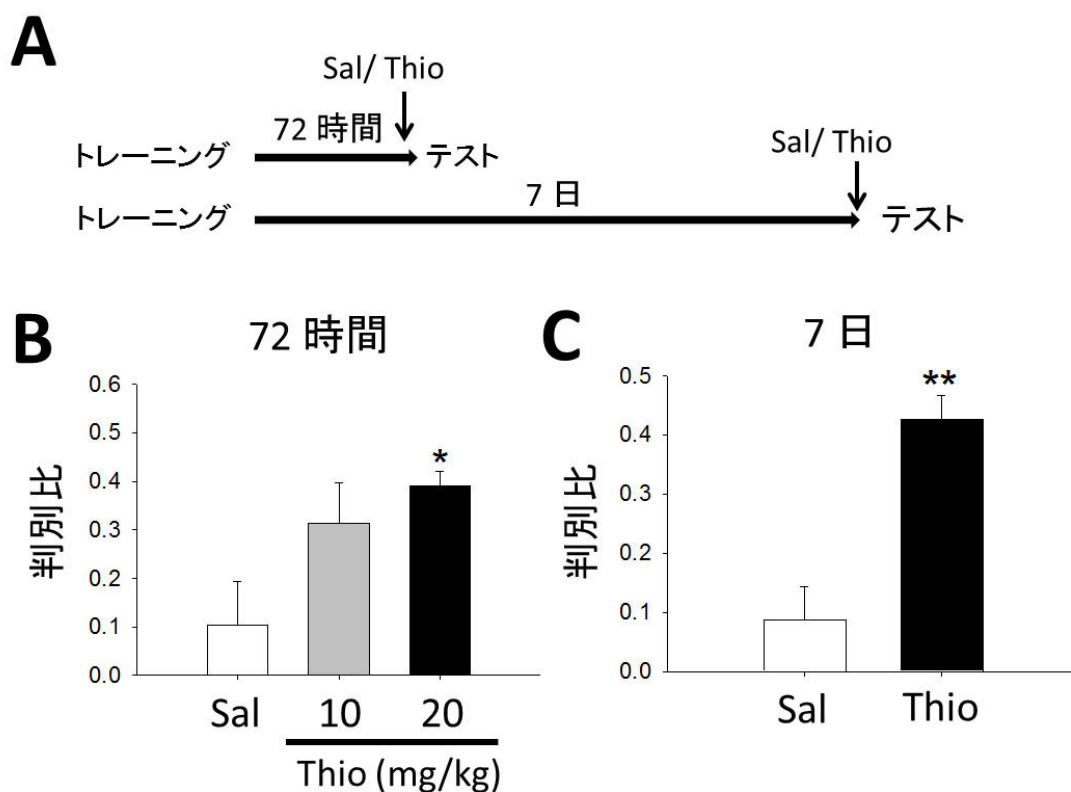


図 1. 物体認識試験におけるチオペラミドによる記憶の回復

A) 行動試験パラダイム。トレーニングとテストの間隔は 72 時間または 7 日間に設定した。テストの 30 分前にチオペラミドを腹腔内投与した。Sal: 生理食塩水、Thio: チオペラミド。

B) トレーニングとテストの間隔が 72 時間の際の判別比。チオペラミド 20 mg/kg により判別比が有意に増加した。N = 6-7. \*P < 0.05, Turkey test.

C) トレーニングとテストの間隔が 7 日間の際の判別比。チオペラミド 20 mg/kg により判別比が有意に増加した。N = 7-9. \*\*P < 0.01, Student's t-test.

## 考 察

本研究により、H3 受容体逆アゴニストであるチオペラミドが、忘却された物体認識記憶を回復することを明らかにした。チオペラミドによる記憶成績の回復は、物体認識記憶自体への作用を反映したものではなく、非特異的な作用を介したものである可能性もある。記憶成績の向上に結び付く可能性のある要素として、視覚・触覚などの感覚機能の向上、覚醒レベルの上昇、物体への好奇心の増加などが挙げられる。しかし、本研究で示したように、チオペラミドにより物体の総探索時間に変化は見られなかったことから、覚醒レベルや物体そのものへの好奇心には影響しないものと考えられる。また、H3 受容体逆アゴニストは痛覚抑制作用を持つことが知られていることから、チオペラミドが触覚を向上させるとは考えにくい。以上を考慮すると、チオペラミドの作用は記憶自体に対する作用であると考えられる。

本研究により、トレーニングから 7 日間経過した際もチオペラミドにより記憶の回復が見られたことから、見かけ上は記憶成績が低下しているとしても、少なくとも 7 日間は脳内に何らかの記憶痕跡が残っていると考えられる。本結果は、同じく物体認識記憶を用いた研究と一致している<sup>3)</sup>。この研究では、トレーニングから 9 日後において、テスト時の記憶成績は低下している。この時点で記憶痕跡が残っているかを調べるために、テストの 1 時間前にごく短時間の再トレーニングを行ったところ、記憶成績が回復した。本結果から、トレーニングから記憶成績が低下していたとして

も、少なくとも9日間は記憶痕跡が残っていることが示された。しかし、21日後に同様の再トレーニングを行った群では記憶成績の回復は見られなかったことから、21日経過すると記憶痕跡が消失すると筆者らは主張している。

今後は、作用メカニズムの更なる解明をすると共に、他のH3受容体逆アゴニストや、他の学習課題においても同様の効果が見られるかを明らかにしていきたい。

### 共同研究者

本研究の共同研究者は北海道医療大学薬学部の野村洋および人羅葉津子である。

### 文 献

- 1) Gale GD, Anagnostaras SG, Godsil BP, Mitchell S, Nozawa T, Sage JR, Wiltgen B, Fanselow MS. Role of the basolateral amygdala in the storage of fear memories across the adult lifetime of rats. *J Neurosci*. 2004 Apr 14;24(15):3810-5. PMID: 15084662 DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4100-03.2004 PMID: 15084662
- 2) Winters BD, Saksida LM, Bussey TJ. Object recognition memory: neurobiological mechanisms of encoding, consolidation and retrieval. *Neurosci Biobehav Rev*. 2008 Jul;32(5):1055-70. PMID: 18499253 DOI: 10.1016/j.neubiorev.2008.04.004
- 3) Romero-Granados RI, Fontán-Lozano A, Delgado-García JM, Carrión AM. From learning to forgetting: behavioral, circuitry, and molecular properties define the different functional states of the recognition memory trace. *Hippocampus*. 2010 May;20(5):584-95. PMID: 19603520 DOI: 10.1002/hipo.20669