

194. 光による、睡眠中の記憶形成機構の解明

坂口 昌徳

筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構

Key words : 記憶の消去学習, 睡眠ステージ選択的介入, 記憶の再学習

緒 言

睡眠と記憶の関連は古代から多くの関心が寄せられてきた。近年の神経科学の進歩に伴い、睡眠中に記憶が再整理され、その定着が促進されるという現象が科学的に検証できるようになった。特に、睡眠中に記憶が読み出され、その記憶に対する洞察が誘導されるという研究には大きな注目が集まった [1]。我々の日常生活においても、強く感情を刺激する経験は、その後の睡眠の質や、悪夢など睡眠に関与する様々な現象に影響を及ぼすことはしばしば経験される。特に心理的に耐え難いトラウマとなるような経験をすると、ヒトは心的外傷後ストレス障害 (Post-traumatic Stress disorder: PTSD) を発症する場合がある。PTSD の患者では、トラウマ記憶に関連して、記憶の汎化という症状が認められることが多い。これは、例えば地下鉄での暴行が契機となって PTSD を発症した患者で、暴行を受けていない路線の電車でなくても、電車を想像させるあらゆる音等の刺激 (各ホームでなる音に近い刺激等) によって、トラウマ記憶がそれを受けたときの心理的衝撃とともに、まざまざと患者に蘇ってくる (恐怖の再体験)。そのため、患者はそれらの刺激を極力避けようとするため、例え体は健康であっても健常者の想像を絶するほど不便な生活を強いられることになる。PTSD の病態全てを、一動物で再現することは技術的にも倫理的にも困難であるが、例えば、この記憶の汎化だけに対象を絞れば、(パブロフの犬に代表される) 条件付け学習課題などを使って、動物実験でも検証が可能である。今回、我々はトラウマ記憶を受けた直後に記憶の汎化が起りやすい時間帯が存在することを示した [2]。

PTSD の治療は、認知行動療法と投薬が主である。特に認知行動療法は近年、持続エクスポージャー療法 (Prolonged Exposure Therapy: PE) が Foa らによって確立されたことで大きく前進した [3]。この治療法ではまず、医師の監督下の安全な場所で患者に少しずつトラウマ記憶の想起を促す。当初、患者は強い情動反応を示すが、数ヶ月の治療を続けることで、少しずつ情動反応が収まり、最終的にはトラウマ記憶を思い出しても恐怖感情は伴わなくなる。治療によって記憶が脳内から消え去ることは無いが、記憶による激しい情動反応が無くなると、正常な日常生活が送れるようになる。本治療は非常に有効であるものの、心理的負荷を必要とすることや、治療期間が数ヶ月と長いこと、治療意欲によって効果が大きく左右されること、などの点も指摘されている。この過程は、記憶の基礎研究における「記憶の消去」メカニズムの理論と相似点が大いと考えられ、それはつまり基礎研究から臨床へアプローチする際の障壁が少ない可能性を示唆する。我々は、PTSD の患者が頻繁に悪夢をみることや、睡眠中に記憶の再整理が起こる可能性が高いこと [1]、そして睡眠中に記憶の強弱を人工的に左右する研究結果 [4] などを参考に、音を用いて睡眠中に恐怖記憶を減弱できることを示した [5]。現在このメカニズムについて、特に成体の脳内の海馬で新生するニューロンの関与を検討している。本研究を通して、どの様にトラウマ記憶が脳内で処理され、その知見に基づいて PTSD の治療を改善していくことに貢献できればと考えている。

方法、結果および考察

1. 恐怖記憶の汎化

我々は恐怖記憶の汎化を、コンテキスト条件付け恐怖記憶学習課題を用いて検討した。この課題ではまず、マウスを箱に入れそのコンテキスト（箱）を探索させた後に電気ショックを与える。マウスがコンテキストと電気ショックを結びつけて学習した場合にのみ、その後同じ箱に入れるとおびえ反応（フリージング）を示す。このおびえ反応の強さを測定することにより、恐怖記憶の強さを客観的に判定することができる。さらに、恐怖記憶の汎化を測定する際には、学習に用いた箱に近い形や素材の箱や全く類似点が無い箱を用いる。通常ではこれらの箱ではフリージングは観察されないが、記憶の汎化が起るとフリージングが観察されるようになる。我々は、恐怖記憶学習（電気ショック）を与えられてから数時間後に、学習したコンテキストに近い箱にマウスを入れると、その箱で電気ショックを与えていないにもかかわらずフリージングするようになる（汎化する）ことを見出した。これは、学習後から24時間経過した後に同様の操作をしても認められなかった。また、学習に用いたものと相似点の少ないコンテキストでは恐怖記憶の汎化は起こらなかった。相似したコンテキストで記憶が汎化するが、このコンテキストを学習前に暴露されたことが無い場合には、汎化は起こりにくいことも明らかになった[1]。

2. 恐怖記憶の反応を睡眠中に音により減弱

上記の結果は、学習直後には記憶の内容に変化が起りやすい時間帯が有ることを示唆している。また、マウスはヒトと比較して睡眠サイクルが短い（約10数分程度で睡眠と覚醒を繰り返す）ため、この時間帯でもノンレムやレム睡眠を多く経験する。そこで、この時間帯の睡眠中に外部から刺激を与えることで、その後のマウスの恐怖反応に影響を及ぼすことが出来るかを検討した。マウスの睡眠は、脳波上の周波数パターンに従ってレム睡眠とノンレム睡眠とに分けられる。今回、特定の睡眠期に外部刺激を与えた場合の効果を検討することを目的としたため、いつ刺激を与えるかをコントロールしやすい、音を用いた刺激を用いることとした。そのために、学習記憶課題として **Trace fear conditioning** を用いることとした。**Trace fear conditioning** では、もともとマウスに取って意味のない音を聞かせた20秒後に電気ショックを与える。これを5回繰り返すと、マウスは音が電気ショックの前触れになることを理解し、音を聞かせただけでフリージングするようになる。この20秒間の間隙を明けるのは、この期間マウスは音を聞いたことを覚えている必要があるため、この実験上の操作をすることによってこの恐怖記憶は海馬（と扁桃核）で記憶されるようになることがこれまでの研究で明らかにされている。この学習の後、マウスを1.ノンレム睡眠、2.レム睡眠中に音を聞かせる群と、3.音を聞かせない群の3つに振り分け、音を聞かせた効果を学習から24時間後に判定した。3群間の比較では、若干REM睡眠に音を聞かせた群においてはノンレム睡眠に移行しやすいこと以外には、大きな影響は認められなかった。また、この学習課題ではコンテキスト恐怖記憶も同時に測定可能であるが、特に音を聞かせた影響を認めることはできなかった。最後に、テスト時に音を聞かせてフリージングを測定した所、1のノンレム睡眠時に音を聞かせたマウスのみにおいて、恐怖反応が減弱する（フリージング時間の減少）ことが観察された（図1, 2）[5]。

3. 新生ニューロンの睡眠中の興奮と記憶固定化

現在この責任回路として成体海馬歯状回で新生するニューロン[6]をターゲットに、光遺伝学を用いた検討を行っている。

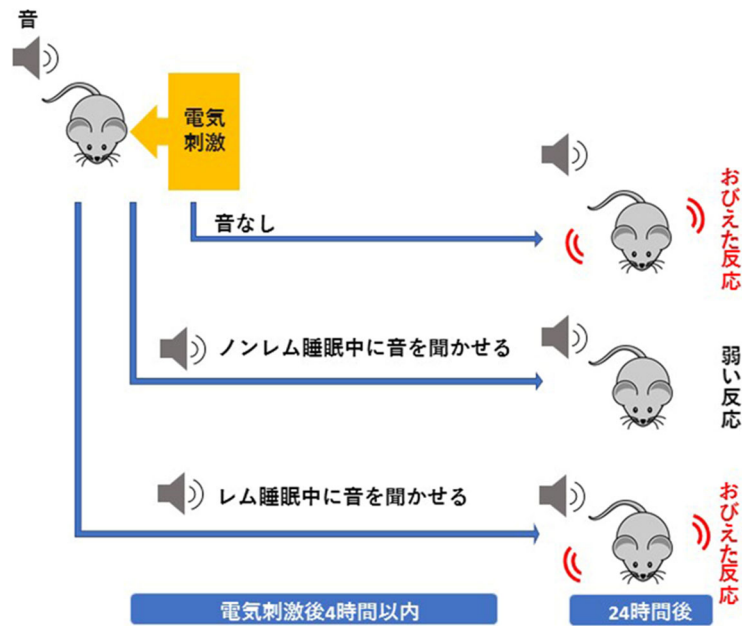


図1. ノンレム睡眠中の音刺激により恐怖反応が減弱

マウスが情動反応を示さない音を聞かせた後に電気ショックを与えると、音を聞かせただけで恐怖反応（すくみ反応）を示すようになる。この学習の直後に図のようにマウスを3群に分けてテストを行うと、ノンレム睡眠中に音を聞かせたマウスのみ情動反応が減弱することが分かった。

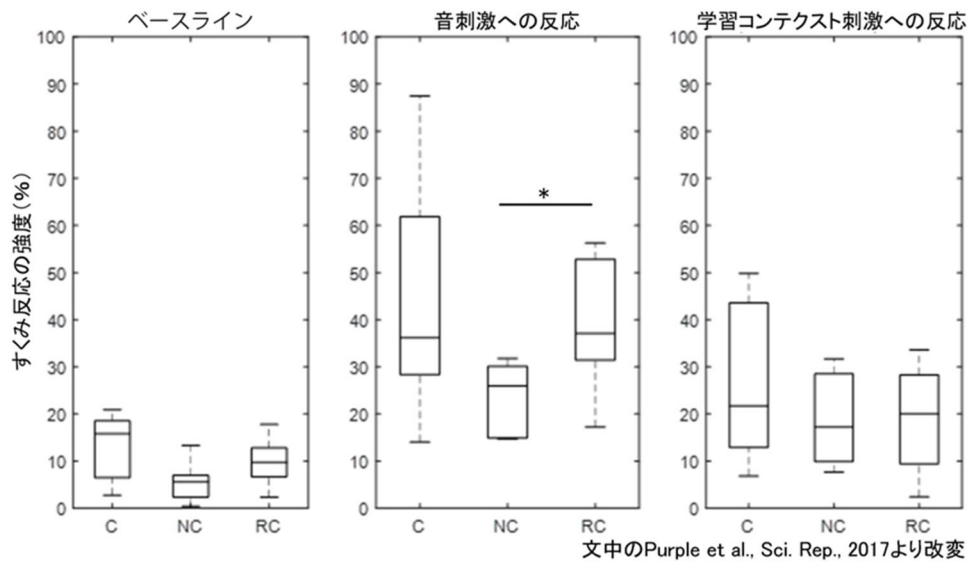


図2. すくみ反応の詳細

音無し (C)。ノンレム睡眠中 (NC)、レム睡眠中 (RC) に音刺激群について、異なる箱に入れたときの反応 (左)、その箱で音を再度聞かせた反応 (中央)、学習に用いた箱に入れたときの反応 (右) を、全体の滞在時間におけるすくみ反応が認められた時間の割合で示す。統計情報：multivariate general linear models with post-hoc Bonferroni correction, * $p < 0.05$. Data are shown as mean \pm SEM.

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、Sleep and Circadian Neuroscience Institute, Nuffield Department of Clinical Neurosciences, University of Oxford, Sir William Dunn School of Pathology の Ross Purple、筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構の櫻井武、藤中彩乃、李若詩、Deependra Kumar、Centre for Clinical Brain Sciences, University of Edinburgh の Szu-Han Wang、国立精神神経医療研究センター成人精神保険研究部（現所属：福島県立医科大学、心身医療科）の中島聡美である。

文 献

- 1) Wagner U, Gais S, Haider H, Verleger R, Born J. Sleep inspires insight. *Nature*. 2004 Jan 22;427(6972):352-5. DOI: 10.1038/nature02223
- 2) Fujinaka A, Li R, Hayashi M, Kumar D, Changarathil G, Naito K, Miki K, Nishiyama T, Lazarus M, Sakurai T, Kee N, Nakajima S, Wang SH, Sakaguchi M. Effect of context exposure after fear learning on memory generalization in mice. *Mol Brain*. 2016 Jan 8;9:2. doi: 10.1186/s13041-015-0184-0.
- 3) Foa EB. Prolonged exposure therapy: past, present, and future. *Depress Anxiety*. 2011 Dec 21;28(12):1043-7. doi: 10.1002/da.20907.
- 4) Rasch B, Büchel C, Gais S, Born J. Odor cues during slow-wave sleep prompt declarative memory consolidation. *Science*. 2007 Mar 9;315(5817):1426-9. DOI: 10.1126/science.1138581
- 5) Purple RJ, Sakurai T, Sakaguchi M. Auditory conditioned stimulus presentation during NREM sleep impairs fear memory in mice. *Sci Rep*. 2017 Apr 12;7:46247. doi: 10.1038/srep46247.
- 6) Akers KG, Chérasse Y, Fujita Y, Srinivasan S, Sakurai T, Sakaguchi M. Regulatory Influence of Sleep and Epigenetics on Adult Hippocampal Neurogenesis and Cognitive and Emotional Function. *Stem Cells*. 2018 Feb 27. doi: 10.1002/stem.2815.