

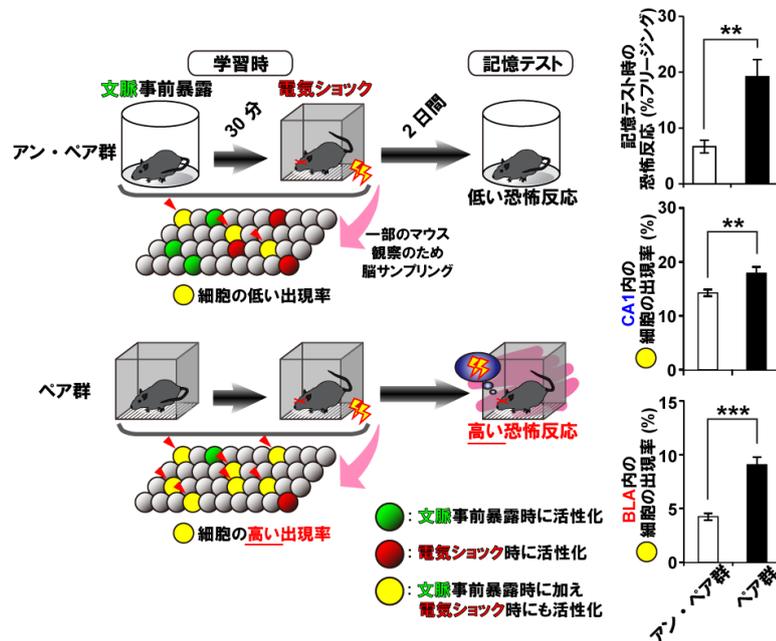
### 3. 2つの記憶の人為的な連合

[論文要旨\(Cell Reports へリンク\)](#)

[研究成果の内容\(JST\)](#)

ところが、すでに記憶として蓄えられている古い記憶同士が連合して質的に異なる新たな記憶が形成されるメカニズムは不明であった。そのため、2つの記憶を人工的な手法で連合させ、新たな記憶を構築・再現することができるのかが大きな課題として残っていた。

本研究ではマウスを用い、学習課題として文脈性恐怖条件付けの変法であるCPFE課題を使用した。条件付け装置(四角い箱)に入れられてすぐ電気ショックを受け直ちに取出される(即時ショック)と、マウスは装置と恐怖体験を関連づけることができない。ところが、いったん装置に入れてその場所の記憶を形成させておく(文脈事前暴露)、そのあとの即時電気ショック体験で装置と恐怖を連合して記憶し、四角い箱で高い恐怖反応を示す(図5、ペア群)。一方、文脈事前暴露として丸い箱を覚え込ませた後に、四角い箱で即時ショックを与えたケースでは、両者の体験間に連合は起きないため、丸い箱に入れられたマウスは低い恐怖反応しか示さない(図5、アン・ペア群)。丸い箱の体験と恐怖の体験(電気ショック)は独立した記憶として覚え込まれていた。



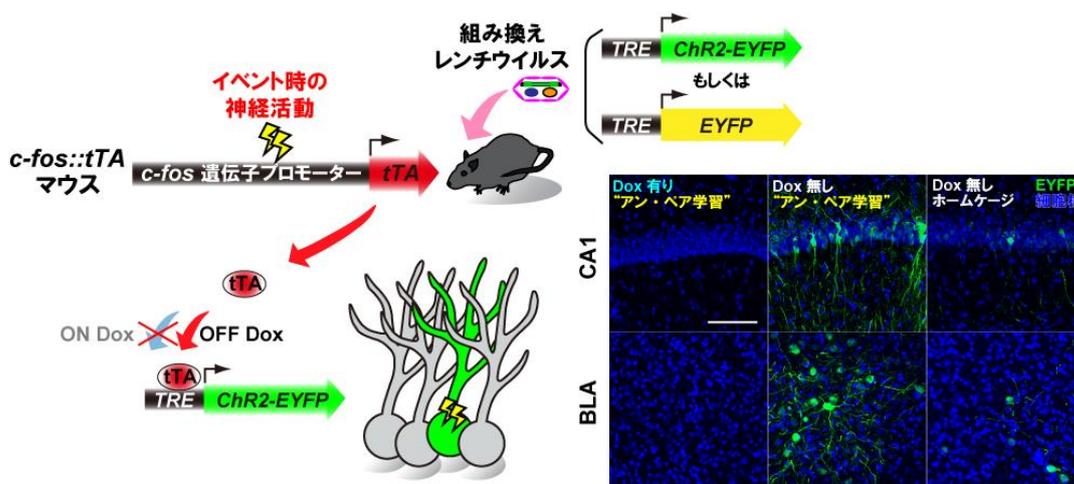
**図5 CPFE課題の概略とCatFISH解析** 文脈事前暴露と電気ショック時に違う箱を使用したアン・ペア群では、記憶テスト時に低い恐怖反応(フリージング反応)しか示さないのに対して、同じ箱を使用したペア群では高い恐怖反応を示した。ペア群では、海馬CA1領域と扁桃体BLA領域でともにオーバーラップ神経細胞(黄)の数が増加した。

緑: 文脈事前暴露の時に活動した神経細胞、赤: 即時電気ショックの時に活動した神経細胞、黄: どちら

らのケースでも活動した神経細胞(オーバーラップ神経細胞)。

文脈事前暴露と即時ショックの体験時に活動した神経細胞をCatFISH法で解析したところ、場所の記憶と恐怖の記憶が連合する場合は、文脈事前暴露時と即時電気ショック時のどちらでも活動する神経細胞(オーバーラップ神経細胞)の数が、特に扁桃体のBLA部位で増加した(図5)。すなわち、場所セルアセンブリと恐怖セルアセンブリの間のオーバーラップ率が連合しない場合に比べて大きく増大することが分かった。このことより、2つのセルアセンブリが同時に活動し重なることが、記憶の連合のメカニズムであることが強く示唆された。

次に、2つの独立した記憶を人為的に連合できるか否かを調べた。c-fos::tTA遺伝子改変マウスと組み換えレンチウイルス遺伝子導入法を組み合わせたシステムを用いて、丸い箱と即時ショック時(アン・ペア群)に活動した海馬と扁桃体のセルアセンブリにチャンネルロドプシン2を導入した(図6)。



**図6** 学習時に活動した神経細胞特異的にチャンネルロドプシン2(ChR2)を導入する原理 c-fos::tTA遺伝子改変マウスでは、活動した神経細胞特異的にtTA転写因子が発現誘導される。組み換えレンチウイルスにより、実験群としてTRE::ChR2-EYFPやコントロール群としてTRE::EYFPを海馬および扁桃体BLAの神経細胞に導入しておく。ドキシサイクリン(DOX)非存在下(OFF DOX)で、tTA転写因子はTRE配列に結合してChR2-EYFPやEYFPの発現を誘導する。

これらの体験の1日後にマウスがホームケージでくつろいでいるときに、海馬と扁桃体に刺入した光ファイバーを通じて20Hzのレーザー光を2分間照射し、チャンネルロドプシン発現細胞を活動させた。この操作で丸い箱のセルアセンブリと恐怖体験のセルアセンブリが同期活動する。その翌日、これらのマウスを丸い箱に入れると強い恐怖反応を示したことから、人為的に2つの記憶を連

合させ新しい記憶を合成できることがわかった。マウスが体験したことのない三角の箱では恐怖反応を示さなかったことから、場所の記憶と恐怖記憶の人為的な連合には特異性がある(図7)。この人為的な記憶の連合は、NMDA受容体依存性やたんぱく質合成依存性があり、さらには時間経過とともに般化の過程を経るなど、通常の方法で形成される連合記憶と同じ性質を持つ。

以上の結果から、それぞれの記憶に対応するセルアセンブリが同時に活動しオーバーラップすることが記憶の連合のメカニズムであること、また、異なるそれぞれのセルアセンブリを同期活動させることで独立した2つの記憶を人為的に連合させることができることが明らかになった。

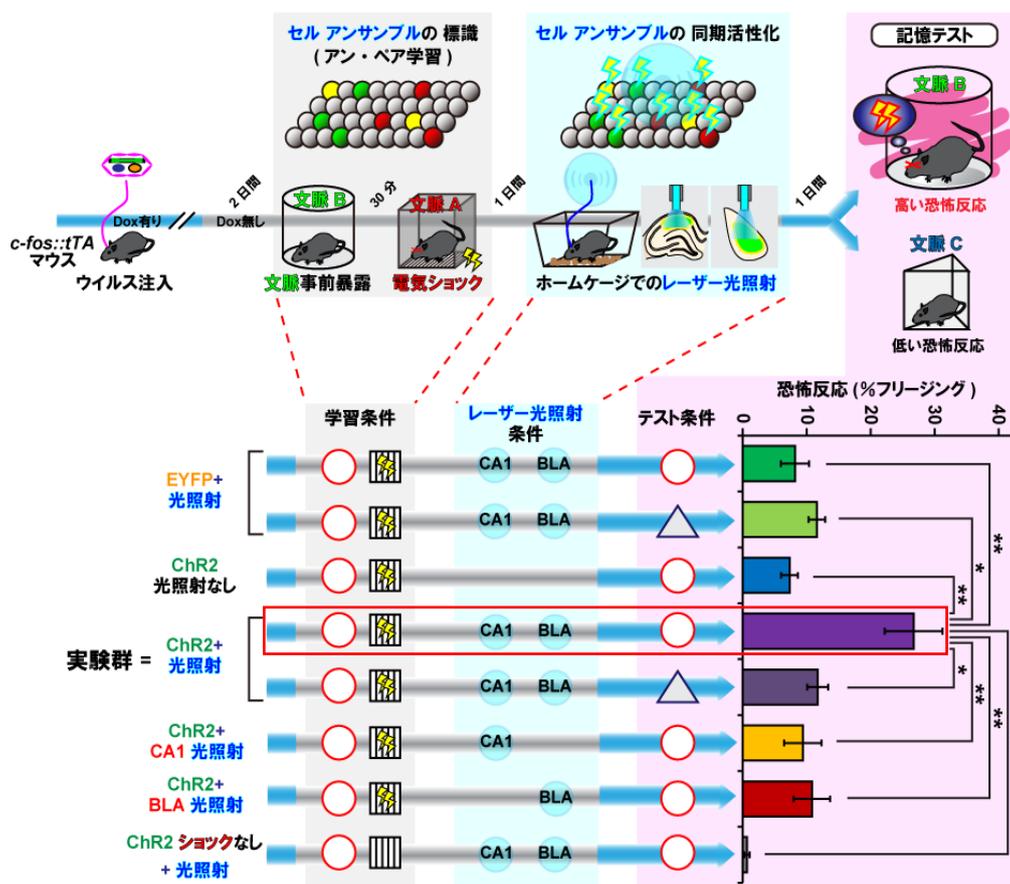


図7 2つの独立した記憶の人為的な連合 扁桃体BLAと海馬CA1にChR2-EYFPあるいはEYFPが導入されたc-fos::tTA遺伝子改変マウスにアン・ペアのCPFE課題を与えた。その学習時にOFF DOXとして、活動した神経細胞(緑、赤、黄色)のみをChR2-EYFPあるいはEYFPで標識した。翌日マウスがホームケージでくつろいでいるときに、レーザー照射でそれらの神経細胞群を同期活動させた。記憶テストでは、ChR2-EYFPが導入され、CA1とBLA共にレーザー照射を受け、かつテストで丸い箱に入れられたマウスだけが高い恐怖反応を示した(赤い四角で囲んだ紫のバー)。