

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460311

研究課題名(和文)エピソード記憶の保持・想起に関する神経生理学的研究

研究課題名(英文)Neurophysiological study for retention and retrieval in episodic memory.

研究代表者

堀 悦郎 (Hori, Etsuro)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・教授

研究者番号：90313600

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：空間移動課題の学習による行動変化を解析した結果、サルは学習により空間内の遠方に設置された手掛かり刺激を2つ以上利用して空間を認知するようになったと考えられた。課題遂行中のサル脳梁膨大後部皮質からは、場所や移動に関連するニューロン活動が記録された。これらのニューロンには、空間内の手掛かり刺激を除去あるいは追加すると、応答強度が減弱するものがあった。そこで、これらのニューロンに対して新規空間での移動課題を行かせたところ、場所関連のニューロン応答は消失していた。このことから、これらのニューロンは新奇性に対して応答しているのではなく、特定の場所に関する記憶の保持あるいは想起に関連していると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Behavioral change was analyzed which depend on establishment of learning on spatial navigation task. After established spatial learning, monkeys might used distal spatial cues to estimate their own location and reward areas. Place-selective neuronal activity was observed from monkey retrosplenial cortex during spatial navigation task. These neuronal activity was reduced by added or removed distal spatial cues, and not responded to novel environment. These results suggest that retrosplenial neuron has a function of memory retention or retrieval about spatial information.

研究分野：神経生理学

キーワード：エピソード記憶 空間認知

1. 研究開始当初の背景

エピソード記憶は、「いつ、誰が、どこで、何を、どうした」といった情報に関する記憶であり、日常生活を送る上で必要不可欠な記憶機能である。過去のエピソードを正しく獲得、保持し、必要に応じて想起することは、生物が生きていく上で極めて重要な機能と言える。これまでの研究から、海馬体はエピソード記憶や空間認知に重要な働きをする事が明らかとなっている。海馬体ニューロンの活動は空間認知課題遂行中に上昇し (Aguirre et al., 1996; Maguire et al., 1998)、海馬体の損傷は空間認知・学習課題のパフォーマンスを大幅に低下させる (Astur et al., 2002; Hampton et al., 2004)。海馬体のニューロンは空間内の場所、イベント、順列等、エピソードの情報要素に応答することが、げっ歯類 (O'Keefe and Dostrovsky, 1971; McNaughton et al., 1983; Muller and Kubie, 1987; Eichenbaum et al., 1990) および霊長類 (Matsumura et al., 1999; Hori et al., 2005; Hori et al., 2011) で確認されている。これらの結果から、海馬体ニューロンは、少なくともエピソード記憶の獲得時あるいは想起時に働いていると考えられる。一方、海馬体を介して獲得されたエピソード情報は、大脳皮質に蓄えられると考えられている。特に、脳梁膨大後部皮質を含む頭頂皮質は、古い記憶の想起を必要とする空間課題で活動し (Teng and Squire, 1999; Spiers and Maguire, 2006)、破壊実験や損傷患者で空間課題の成績が低下する (Takahashi et al., 1997; Aguirre and D'Esposito, 1999) ことから、エピソード記憶の空間要素情報が蓄えられる可能性も考えられている。しかしこれまで、これらの脳梁膨大後部皮質のニューロンがエピソード記憶の保持あるいは想起に関与するという神経生理学的なデータはない。

2. 研究の目的

本研究では、サルを用いて空間認知課題遂行中の脳梁膨大後部を含む大脳皮質のニューロン活動を記録し、霊長類のエピソード記憶における脳梁膨大後部皮質の役割について神経生理学的に明らかにすることを目的とした。特に、研究代表者はこれまで、空間移動課題の遂行に重要な海馬体の働きを研究してきた経緯があるので、空間およびイベントの情報に着目して研究を進めることとした。これらのことから、様々な空間手掛かり刺激がある空間を仮想現実技術により構築し、これらの空間移動課題をサルに訓練した。この訓練を十分に行うことにより、サルは複数の空間情報を記憶、保持し、課題遂行時には保持されている記憶を想起することとなる。本研究では、この空間移動課題の遂行中に空間内の手掛かり刺激を消去、あるいは増設することで過去の空間記憶を想起させ、その際のサルの行動と共に脳梁膨大後部皮質のニューロン活動の変化を解析する事により、霊長類のエピソード記憶保持・想起に係わる脳梁膨大後部の役割について明らかにしようと試みた。

過去の研究により、脳梁膨大後部皮質の損傷患者では、既知ランドマークの認知は可能であるが、それら既知ランドマークを手掛かりとして用いた場合のゴール方向の特定が障害されると報告されている (Takahashi et al., 1997)。さらに、ヒトを被験者としたイメージング研究では、ランドマークの距離を判断する際 (Rosenbaum et al., 2004) や、経路計画を立てる際 (Spiers and Maguire, 2006) に、脳梁膨大後部皮質が強く活動すると報告されている。サルを用いた神経生理学的研究では、海馬体と同様に脳梁膨大後部皮質にも場所細胞が同定されており、空間課題のルート知識

に關与することが報告されている(Sato et al., 2006, 2009)。げっ歯類を用いた脳梁膨大後部皮質の破壊実験では、外界刺激を手掛かりとした空間課題の遂行が障害される(Vann and Aggleton, 2002, 2004)。これらの報告から、脳梁膨大後部皮質が空間認知、特に距離や方向の認知に關与することは間違いないと思われる。しかし、空間記憶の保持・想起に關して、脳梁膨大後部皮質の果たす役割を神経生理学的に調べた研究はない。これらのことから、本研究ではエピソード記憶の保持・想起における脳梁膨大後部皮質の役割を神経生理学的に明らかにするため、以下の方法で実験を行った。

3. 研究の方法

概要：仮想（VR）空間呈示装置を用い、VR 空間移動課題に対するサル脳梁膨大部皮質ニューロンの活動を解析した。課題では、VR 空間内にサルの可動領域を設定し、サルがジョイスティックを操作することにより報酬領域に入ることによって報酬を獲得できるように設定した。VR 空間を用いることで、空間内に配置した手がかり刺激の種類と位置を自由に設定することができ、複数の空間における移動課題を訓練することが可能である。これら複数の空間における移動課題を遂行中のサル海馬体および脳梁膨大後部皮質からニューロン活動を記録する。課題遂行中にニューロンが場所関連応答を示した場合、空間内の手がかり刺激を消去あるいは新たに追加し、サルに空間記憶を想起させ、場所関連応答ニューロンの活動を記録した。空間内の手がかり刺激を操作する理由は以下のとおりである。すなわち、空間内の手がかり刺激の変化によって活動に変化が生じるニューロンは、少なくとも過去の空間記憶との差を検出しているニューロンと考えられるので、エピソード記憶の保持あるいは想起に關与するニューロン

であると分類できる。このエピソード記憶関連ニューロンの存在は、脳梁膨大後部皮質がエピソード記憶の保持あるいは想起に關与する事を示す証拠となる。

VR 空間移動課題：本課題では、VR 呈示装置により仮想空間（半径 100 m）内に低い壁で囲まれた可動領域（半径 10 m の円形）を設定した。サルは、この可動領域のだけを移動できるようにした。可動領域外の仮想空間には、様々な空間的手掛かり刺激を配置した。空間的手掛かり刺激の配置により 3 種類の仮想空間を設定した。空間的手掛かり刺激として、木、家、ビル、岩、ポスターなどを用いる。サルは、マイコン入力装置（ジョイスティック）を操作して、可動領域内に設定した 2 つの報酬領域を往復することにより、それぞれの報酬領域に進入した時点でジュース報酬を獲得できるようにした。報酬領域は、訓練当初は明示し、徐々に透明化した。この空間移動課題を十分に訓練することで、サルは空間内における報酬領域の位置を記憶したと考えられる。すなわち、報酬領域を明示しなくても、複数の報酬領域間を交互に移動する行動パターンが観察された。

サルが本課題を遂行中に、海馬体および脳梁膨大後部皮質のニューロンからエピソード記憶関連応答が記録された場合、以下の手続きを行った。

まず、当該ニューロン応答がみられた際に、サルから見える空間的手掛かり刺激の一つを消去した。この状態で課題を行い、サルの行動およびニューロン応答を記録した。その後、当該ニューロン応答が見られた際のサルから見える位置に、新たな空間的手掛かり刺激を追加し、同様に課題を行ってサルの行動およびニューロン応答を記録した。これらの空間的手掛かり刺激の操作によってニューロン活動に変化が見られた場

合には、予め用意しておいた新規な空間におけるサルの行動および当該ニューロン活動も記録した。

コントロール課題：空間移動課題に対する対照（コントロール）課題として、単純なポインター移動課題を訓練した。この課題では、スクリーン上の4ヶ所（上下、左右）に小さな報酬領域を設定し、サルはジョイスティックを操作することにより、スクリーン上のポインターを上下、または左右の報酬領域間で往復移動させると、それぞれの報酬領域に進入した時点ジュース報酬を獲得できるようにした。これにより、ニューロン活動が運動関連の応答なのか、あるいは空間情報やイベント情報に関連した応答なのかを判別することが可能である。

手術：上記課題の訓練終了後、麻酔下でチタン性ビスと歯科用セメントでサルの頭骨にU字型フレームを取り付けた。手術回復後（約2週間）U字型フレームを脳定位固定装置に無痛的に固定した状態で再訓練を行った。再訓練終了後は、サル頭部のMRIを撮像し、海馬体および脳梁膨大後部皮質の位置を確認した。

ニューロン活動の記録・解析：サル頭部を脳定位固定装置に固定し、タングステン電極を脳定位的に脳梁膨大後部皮質に刺入してニューロン活動を記録した。同時に、空間内のサルの位置座標、向きおよびジョイスティックの動きをコンピュータに記録した。解析は、off-lineで波形分析により単一ニューロンに分離し、サル、およびポインターの仮想空間またはスクリーン上の絶対的位置に基づいたニューロン発火頻度マップ、サルの向きに基づいた向き依存性応答ヒストグラム、サルの視点（見ている景色）に基づいた視点依存応答ヒストグラム、お

よびジョイスティックの位置に基づいた発火頻度マップを作成して、空間移動行動中の海馬体および脳梁膨大後部皮質ニューロンの応答性を解析した。さらに、空間的手掛かり刺激を消去あるいは追加した際のニューロンの応答性を解析し、海馬体および脳梁膨大後部皮質ニューロンがエピソード記憶の保持・想起に関与するか否かを調べた。

4. 研究成果

2頭のサルの空間学習の行動データを記録するとともに、1頭のサルからはニューロン活動の記録を行った。

4.1. 学習による行動の変化：課題の学習による行動の変化パターンを解析した結果、いずれのサルにおいても、当初は報酬領域を示す直接的な空間手掛かりが見えなくなることで、課題を行わなくなってしまったことから、訓練期には報酬獲得場所を直接示す手掛かり刺激のみに依存して行動していることが判明した。その後、学習期には報酬領域を直接示す空間手掛かり刺激が無い状態でも複数の報酬領域間を移動するようになった。このことから、サルは空間内のより遠方に設置された手掛かり刺激を用い、自己の位置および報酬領域の位置関係を認知して学習していると考えられた。学習の成立した1頭のサルに対し、空間内の任意の手掛かり刺激を一つ除去しても、サルの空間移動行動には大きな変化は認められなかった。しかし、任意の空間手掛かり刺激を複数除去すると、最初の報酬領域を見出すまでの時間が延長していた。また、空間内の手掛かり刺激を1つにしてしまうと、課題を行うことができなくなった。このことから、サルは空間内の遠方にある手掛かり刺激を2つ以上利用して自己の位置および報酬領域の位置を認知していることが示された。

4.2. エピソード記憶に関連した海馬体およ

び脳梁膨大後部皮質ニューロンの活動：空

間移動課題の学習が成立したサルについては、海馬体および脳梁膨大後部皮質よりニューロン活動の記録を行っている。海馬体からは、これまでの研究報告通り、エピソード記憶に関連した応答を示すニューロン活動が記録されている。すなわち、報酬獲得前後で発火頻度が上昇する「イベント関連ニューロン」、特定の報酬領域周囲で発火頻度が上昇する「場所およびイベント関連ニューロン」、特定の進行方向に依存した「方向あるいは視野関連ニューロン」などである。これらのニューロン応答の多くは、空間内の手掛かり刺激を除去あるいは追加してもほとんど変化しなかったことから、記憶の想起や保持には関係せず、エピソード内容そのものを符号化している可能性が考えられる。

一方、脳梁膨大後部皮質からは、海馬体と同様に特定の報酬領域で発火頻度が上昇する「場所およびイベント関連ニューロン」の他、報酬領域とは関係ない特定の場所で発火頻度が上昇する「場所関連ニューロン」、移動中に回転した際に発火頻度が上昇する「回転関連ニューロン」などが記録されている。これらのニューロンには、空間内の手掛かり刺激を除去あるいは追加すると、応答強度が減弱するものがあった。そこで、これらのニューロンに対して新規空間での移動課題を行わせたところ、サルは課題ができなかっただけでなく、場所関連のニューロン応答も消失していた。このことから、これらのニューロンは新奇性に対して応答しているのではなく、特定の場所に関する記憶の保持あるいは想起に関連していると考えられる。

現在、これらのサルの行動記録およびニューロン活動の記録・解析を継続しているとともに、論文発表のための準備を行っている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1 件)

- 1) Furuya Y, Matsumoto J, Hori E, Boas CV, Tran AH, Shimada Y, Ono T, Nishijo H. (2014). Place related neuronal activity in the monkey parahippocampal gyrus and hippocampal formation during virtual navigation. *Hippocampus*, 24(1), 113-130. DOI: 10.1002/hipo.22209

〔学会発表〕(計 3 件)

- 1) Bretas RB, Nakamura T, Matsumoto J, Takamura Y, Hori E, Ono T, Nishijo H. Quantitative analysis of monkey emotional gestures by a markerless 3D motion capture. Neuroscience2015. Oct, 17-Oct, 21, 2015, Cicago, USA.
- 2) Bretas RB, Nakamura T, Matsumoto J, Takamura Y, Hori E, Ono T, Nishijo H. Neural representation of trajectory in the monkey hippocampus. Vision, Memory Thought: how cognition emerges from neural network. Dec, 6-Dec, 7, 2014, Tokyo.
- 3) 松本惇平、古谷陽一、ラファエル・ブレタス・ヴィエイラ、堀悦郎、島田豊、小野武年、西条寿夫。サル海馬体および海馬傍回における空間依存的報酬関連ニューロン。日本味と匂い学会、2013年9月5日-7日、宮城県仙台市。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

堀悦郎 (HORI, Etsuro)

富山大学大学院医学薬学研究部 (医学)・教授

研究者番号：90313600