

記憶形成のメカニズム：分子・細胞認知学の展開

井ノ口 馨

脳の高次機能の解明は、21世紀に残された自然科学の大きなフロンティアの一つである。脳の様々な機能の中でも、「記憶」は最も基礎的かつ重要なものの一つである。人間の精神の営みは記憶なしでは成り立たない。ここ20年余りの研究の進展により、学習・記憶のメカニズムを分子や細胞の言葉で理解する「分子・細胞認知学」が新しい潮流として巻き起こってきている。本稿では、近年の「分子・細胞認知学」の展開を概説すると共に、長期記憶の形成メカニズムに関する私たちの最近の研究成果を、「シナプスタグ」「記憶の再固定化」「遠隔記憶の形成」の三つに焦点を絞って解説する。

1. はじめに

1-1 こころは脳が生み出す

脳が脳を理解できるのだろうか？ 最初から哲学的な話題で恐縮なのだが、記憶形成のメカニズムという脳科学の研究成果を解説するに当たって、この疑問に対する私たちの考えを明示しておくことは意味があるように思う。

「こころは脳にあるのだろうか？」と疑問を持ったり、別の人は「現代科学はこころの働くメカニズムを解き明かすことができるのだろうか？」と考えたりするかもしれない。あるいは「脳の機能はどこまで分かっているのだろうか？」と問いかける人もいよう。

こころは脳が生み出すということを強烈に示した実験がある。50年余り前に行われた「電気刺激により記憶を再現する実験」である¹⁾。

てんかん患者の治療のために、てんかんの原因となる側頭葉の除去手術を執刀していたカナダの脳外科医ベンフィールドが、患者の承諾を得て露出した脳の表面に弱い電流を流したところ、過去の記憶を鮮明に思い出すという

衝撃的な事実を発見した。ある患者にはかつて働いていた事務所の光景が鮮明によみがえり、別の患者にはピアノの伴奏を伴う歌曲の旋律がよみがえった。同じ患者でも刺激する側頭葉の部位を変えることにより、異なる記憶を想起させることができたという。きわめて自然な情景がきわめて人工的な電気刺激でよみがえったことは驚くべきことで、「こころの座」としての「脳」を強烈に印象づける。

1-2 脳の働きを理解できるか

さて、二つ目の問い「こころの働きを解明できるのか？」は、「物理学や化学などの物理科学的手法で脳の働きを理解することができるのか？」という問いに置き換えることができよう。正直に言うと、答えるのがとても難しい問いかけである。

デカルトやカントなどの哲学者を持ち出すまでもなく、「人間あるいは自己とは何だろうか？」といったことを考えたことのある人は多いだろう。古今東西の哲学者はこの問いかけに対してさまざまな解答を与えてきた。当然のことながら、こうした問いかけに脳を研究する科学者も答えていかなければならない。脳が心の座であることを前提とすると、この質問は科学の言葉では「脳の働きの原理は何か？」といったことに置き換えることができよう。すなわち、先の「脳の働きを物理科学で理解できるだろうか？」と同じ問いかけである。

現代文明は自然科学とそれに由来した技術の上になり立っていることから、科学は自然現象を全て解き明かせる、という科学万能信仰があるようだ。誤解を恐れずに言うならば、現代科学、特に物理学や化学などの物理科学は

富山大学大学院医学薬学研究部生化学講座 (〒930-0194 富山市杉谷 2630 番地)

Mechanisms underlying memory formation: Molecular and cellular cognition

Kaoru Inokuchi (Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Graduate School of Medicine & Pharmaceutical Sciences, University of Toyama, 2630 Sugitani, Toyama 930-0194, Japan)

数値や数式で表現できる自然現象のみを対象としている。例えばニュートン力学では、初期条件としてある時刻での位置と運動量が分かると、その物質のその後の振る舞いは完全に予想することができる。だから「はやぶさ」を正確に小惑星「イトカワ」に着陸させることが可能なわけだ。電磁気学や相対性理論、量子力学にしても、数と数式でこの世の物質の客観的な振る舞いを書き表すことができるという世界観に立っている。化学も同様である。

従って、物理・化学を基盤とした現代の生物科学、そして脳科学も、計量化できる現象を対象としているわけである。言い換えれば、現代科学は生物科学も含めて、計量化できる現象に「絞って」研究しているわけだ。「心」という数値化できない「あやふやなもの」は、本来科学の対象となりにくいものだ。

では、心の問題、脳の機能は科学的手法を用いた研究では解き明かせないのだろうか？ 実際には、心の働きの現れである記憶や情動といった高次の脳機能を分子レベルで理解する研究も少しずつではあるが着実に進んでいる。私たち脳科学者は当面の目標として、物理科学でどの程度まで脳の機能を理解できるのかに焦点を絞って研究していくのが現実的であると同時に実りある立場だと考えている。

1-3 脳の働きを理解するために

脳の大きな特徴の一つは、多層にわたる階層性である。分子レベルやシナプス・細胞レベルの上の階層には、神経の回路網があり、その上には回路網の集合体の脳がある。脳を構築している分子や神経細胞（ニューロン）などの働きが明らかになったとしても、それだけでは私たちが普段イメージする心の働きが理解できたとは言えないだろう。特定の神経回路網を電気パルス信号が流れることから心の働きがイメージできるようになって初めて心が理解できたと言えよう。

余談になるが、私たちの頭の中を無数の電気パルス信号が飛び交っていることを想像すると、不思議な気がする。この文章を読んでいるみなさんの頭の中でも、いま盛んに電気パルス信号が飛び交っているわけだ。もちろん睡眠中でも夢を見ているときでも、無数の信号が行き来している。混線したら大変だと心配になってくるが、脳はうまくできあがっていて電気パルス同士がショートすることは無いように巧妙にできているようだ。

「脳内の分子レベルや細胞レベルの現象をうまく記述することができたとしても、それは例えばコンピュータがどのようなハードウェアでできているのかを知るようなものである。同じ機能を持つコンピュータを異なるハードウェアを使って作ることが可能であることを考えると、ハードウェアそのものはコンピュータの働きには本質的なものではないだろう。こう考えると物理科学的手法で分子や細胞レベルの研究をしても脳の働きの本質を知ること

できないのではないか？」といった反論があるかもしれない。しかし分子や細胞レベルのメカニズムを明らかにすることが本当に無駄だろうか？

最近の脳科学研究により、ニューロン同士をつなぎ信号を伝えるシナプス結合は、電気回路の結節点やコンピュータ素子のような機械的で受動的なものとは異なり、新たな入力（経験）に対応して自らを発展させて適応していく非常に動的なものであることが分かってきた。脳はさまざまな遺伝子を動員して構築されたニューロンというハードウェアを使い、長い年月をかけて進化してきた器官である。いま私たち人間が持っている遺伝子やニューロンといった実に精緻な材料以外のもので、私たちの脳と同じ機能を持つものができただろうか？ 他に選択の余地があったとは到底思えない。

脳機能の本質がその物質的な構造に支えられていることは軽視できない点である。ここがコンピュータと根本的に違うところと言い切っていいだろう。もちろん、分子や細胞の機能の理解のみでは脳の働きが説明できないのは言うまでもない。これからは脳の神経回路の計算機論的な研究と分子・細胞レベルの研究の間の溝を埋める努力がますます重要になってくると思う。現代科学の方法論で、脳機能の全てが理解できるようになるかどうかは分からないが、現代科学の方法論でできるところまではとにかくやってみよう、というのが私たち多くの脳科学者の立場である。

さて、前置きはこのぐらいにして本題に入ろう。本稿では、三つめの疑問「現代科学で脳の働きはどの程度明らかにされているのか？」について、記憶を例にとり「分子・細胞認知学」の近年の展開を概観すると共に、「分子・細胞認知学」の展開例として、私たちの記憶研究を解説する。

2. 記憶の2相性

タイムスパンから見ると記憶には少なくとも二つの相（短期記憶と長期記憶）がある²⁾。短期記憶は数秒から数十分程度、長期記憶は1日以上、場合によっては数十年間保持される。両者の相違は保持時間だけでなく、物質的な差異に拠っている。すなわち、長期記憶の形成は脳のニューロンにおけるタンパク質やRNAなどの生体高分子の合成を必要とするのに対して、短期記憶には生体高分子の新たな合成は必要でない^{3,4)}。たとえば、学習の直前にマウス脳へ転写阻害剤やタンパク質合成阻害剤の投与を行うと、短期記憶の形成には影響を及ぼさないが、長期記憶の形成は阻害される^{3,4)}。新たに合成された分子群が長期記憶の形成、記憶の固定化に必要な働きを担うのである。

薬物導入やノックアウトマウスを使った解析から、短期記憶の形成には細胞内にすでに準備されているチャンネル分子やリン酸化酵素群の活性が重要であることが示されている。一方、長期記憶の形成に必要な遺伝子群とそれらの作

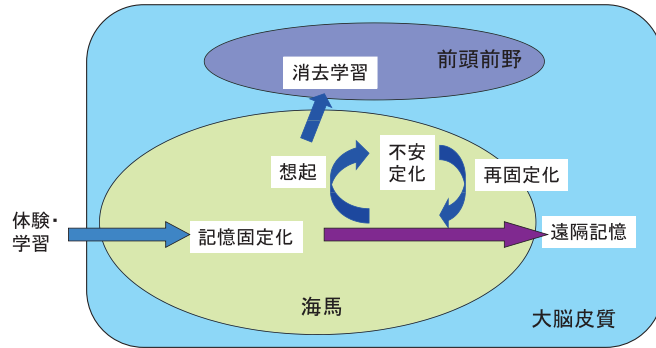


図1 記憶形成のメカニズム

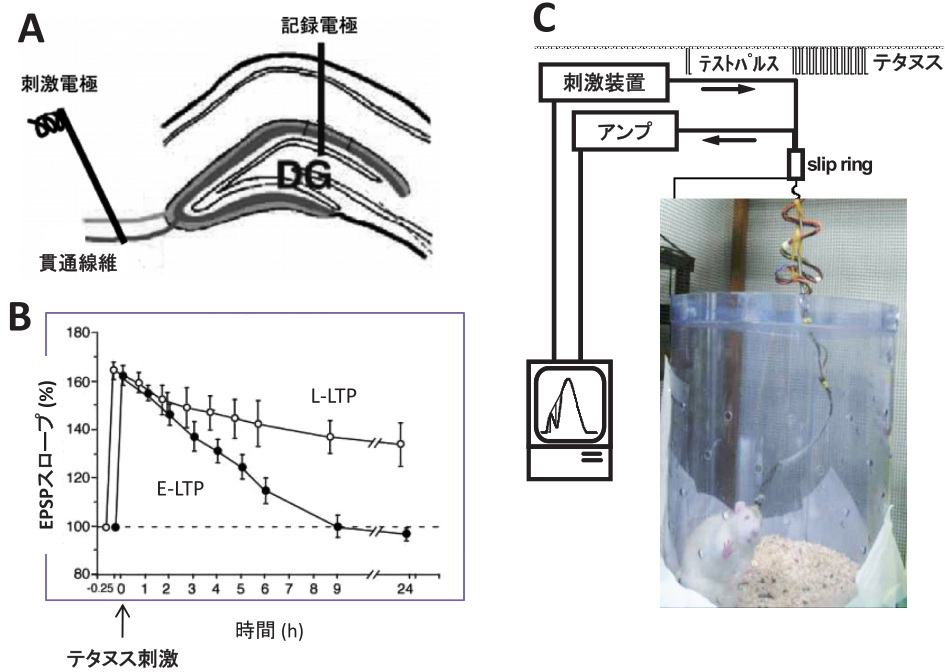


図2 *in vivo* 記録法による脳海馬の歯状回 LTP

- A) 海馬における電極の位置. 刺激電極を大脳嗅内皮質からの投射線維(軸索)である貫通線維に置き, 記録電極を歯状回(DG)のシナプス層に置く. このようにして, 歯状回ニューロンの樹状突起と貫通線維の間のシナプス応答を記録する.
- B) 麻酔下のラット歯状回における LTP の例. 興奮性シナプス後電位(EPSP)スロープは, シナプスの伝達効率の指標である. 刺激電極から強いテタヌス刺激を与えると, 歯状回のシナプスで24時間以上持続するL-LTPが誘導される. タンパク質合成阻害剤アノマイシン存在下では, 数時間で減衰するE-LTPとなる.
- C) 無麻酔で自由に行動しているラットからの海馬歯状回 LTP の測定法.

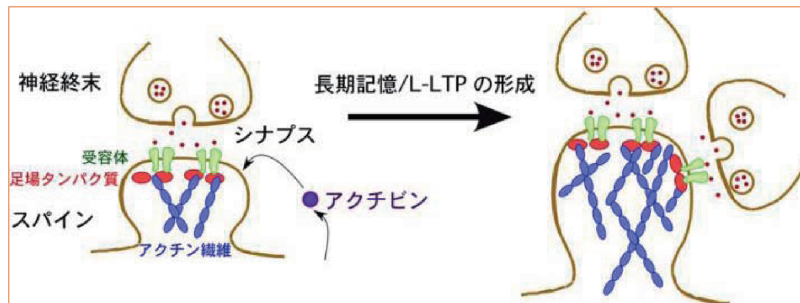


図3 アクチピンによる樹状突起スパインの形態制御

L-LTPに伴い発現が誘導されたアクチピンがスパインのアクチン細胞骨格を制御し, スパイン長を増大する. その結果として, 一つのスパインにシナプスを形成するプレシナプスの数が増加する. こうしたシナプスの形態変化がL-LTPや長期記憶の土台になっていると考えられる.

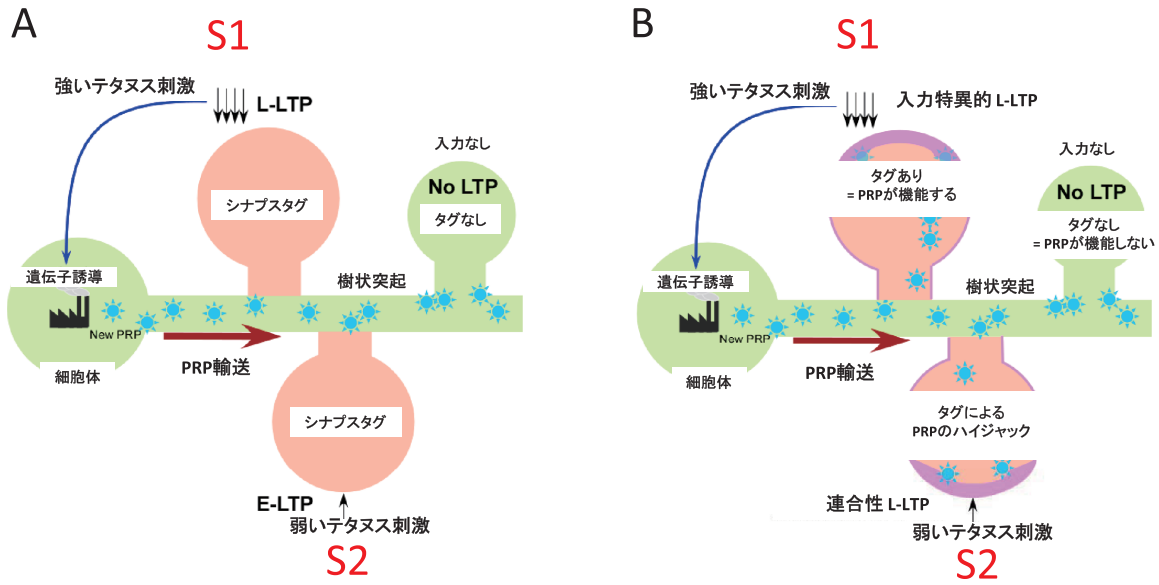


図 4

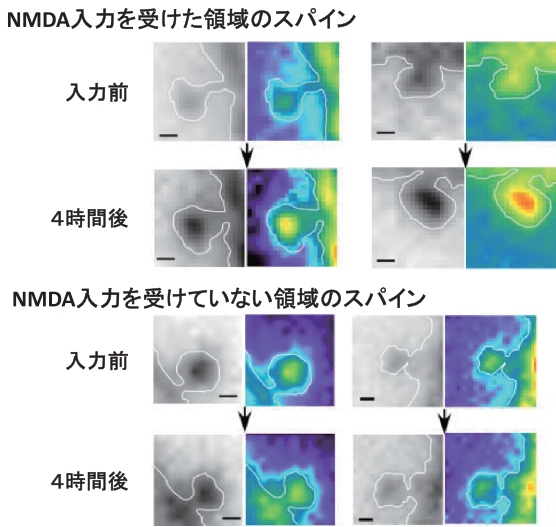


図 5

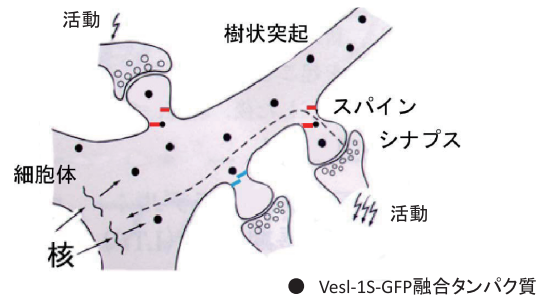


図 6

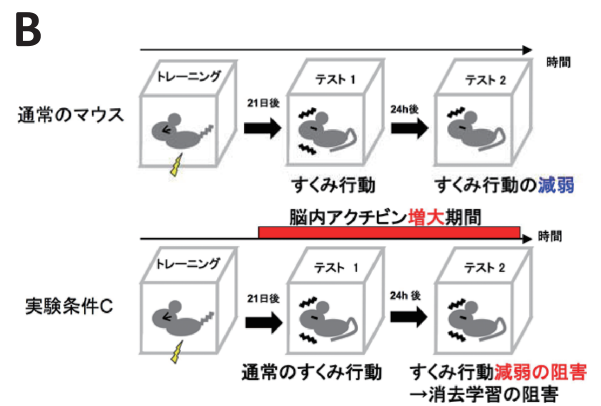
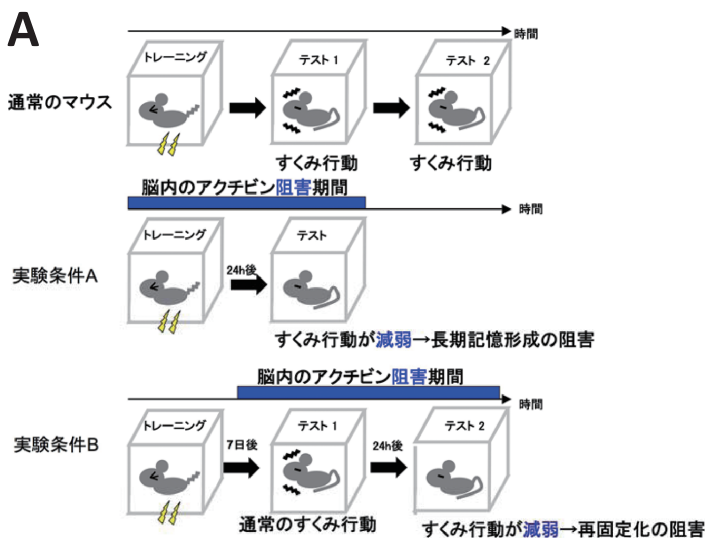


図 7

図4 シナプスタグ仮説

- A) S1 への強いテタヌス刺激により、このスパインに想定上のシナプスタグが付く。強いテタヌスによるシナプス入力、同時に細胞体にシグナルを送り可塑性関連タンパク質 (PRP) の合成を誘導する。PRP は樹状突起内を非選択的に輸送される。一方、弱いテタヌス刺激を受けた S2 のスパインにもシナプスタグがセッティングされるが、入力を受けていないスパインではシナプスタグがセッティングされない。
- B) 樹状突起にまんべんなく輸送された PRP は、想定上のシナプスタグがセッティングされたスパインで機能するが、タグのないスパインでは機能できない。結果として、S1 では L-LTP が誘導されるが、入力を受けていない右端のシナプスでは LTP が誘導されない。S2 のスパインにセッティングされたシナプスタグは、S1 への刺激により合成された PRP をハイジャックするため、こちらの経路にも (連合性の) L-LTP が誘導される。

図5 シナプスタグ仮説の実証例

Ves1-1S-GFP 融合タンパク質を脳海馬の神経細胞に導入し、顕微鏡下でリアルタイム観察した。シナプスが NMDA 入力を受け活動すると、そのシナプスのスパイン内の蛍光が増大した。これは、融合タンパク質のスパインへの取り込みがシナプス活動により制御されていること、また、シナプスタグの実体がスパインの入り口にあるゲートの開閉であることを示している。NMDA 入力を受けていないスパインでは蛍光強度に変化が認められなかった。各図の右側は、蛍光の増加分を疑似カラー表示したもの。

図6 シナプスタグの実体

シナプスタグは樹状突起からスパインへのタンパク質の取込活性である。細胞体で合成された Ves1-1S-GFP 融合タンパク質 (黒丸) は樹状突起に運ばれるが、使用されていないシナプス部位のスパインには入れない (水色の閉じたゲート)。一方、シナプスの伝達効率が変わる刺激 (稲妻型矢印) を受けたシナプス部位のスパインではこのゲートが開き (赤)、輸送されてきた Ves1-1S-GFP 融合タンパク質がスパインの中に入れるので、シナプスに到着して機能できる。弱い入力を受けたスパインでもゲートが開くため、強い入力により合成された PRP をハイジャックする。シナプスタグ機構は、通常はすぐ忘れてしまうような記憶 (弱い入力) でも、その前後に別の強烈な経験 (強い入力) をすると、長期的な記憶となる現象の細胞レベルの基礎であると想定される。

三つの稲妻型矢印、L-LTP や長期記憶を引き起こす強い入力

一つの稲妻型矢印、E-LTP や短期記憶しか引き起こせない弱い入力

図7 脳内のアクチビン活性による記憶形成の制御

- A) 脳内のアクチビン活性は長期記憶の形成に重要であり (実験条件 A)、かつ想起時のアクチビンの阻害は想起された記憶を減弱させる (実験条件 B)。

ここで行った恐怖条件付けでは、再固定化が生じる条件で恐怖記憶を想起させた (テスト)。トレーニング (条件付け) 時に箱の中で電気ショックを与え、実験条件 A では 24 時間後、実験条件 B では 7 日後に再び同じ箱に入れた。テスト時には電気ショックは与えない。実験条件 A では、トレーニング時に脳内アクチビンを阻害すると、アクチビンを阻害しないマウスに比べてテスト時の“すくみ行動”が有意に減弱した。実験条件 B では、恐怖記憶が形成された後の想起時 (テスト 1) に脳内アクチビンを阻害した。マウスのすくみ反応は、テスト 1 では異常なかったが、テスト 2 において有意な減弱を示した。この結果は、想起時のアクチビン阻害が、想起された恐怖記憶を減弱することを示している。

- B) 想起時のアクチビン増大は、消去学習を阻害する。

消去学習が生じる条件で文脈性恐怖条件付けテストを行った。消去学習を生じさせる目的で A) の実験よりも“電気ショックが弱く”、“トレーニングとテスト 1 の期間が長い”。この実験群では 21 日後に再び同じ箱に入れている。通常のマウスでは、テスト 1 に比べテスト 2 において、すくみ反応の減弱を示した (消去学習)。実験条件 C では、テスト 1 では通常のすくみ反応を示したが、通常マウスのテスト 2 で見られたすくみ反応の減弱が阻害された。この結果は、想起時のアクチビン量の増大が、消去学習を阻害することを示している。

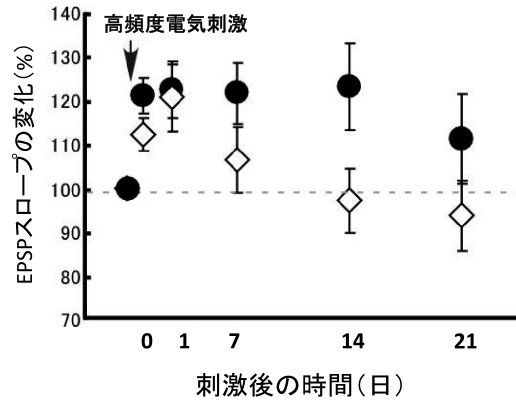


図8 神経新生によるL-LTP持続の調節
ここで用いたテタヌス刺激は、通常のラットでは1週間程度持続するL-LTPを誘導した(白ダイヤモンド)。頭部にX線照射を受け神経新生が阻害されたラットでは、同じテタヌス刺激が3週間持続するL-LTPを誘導した(黒丸)。

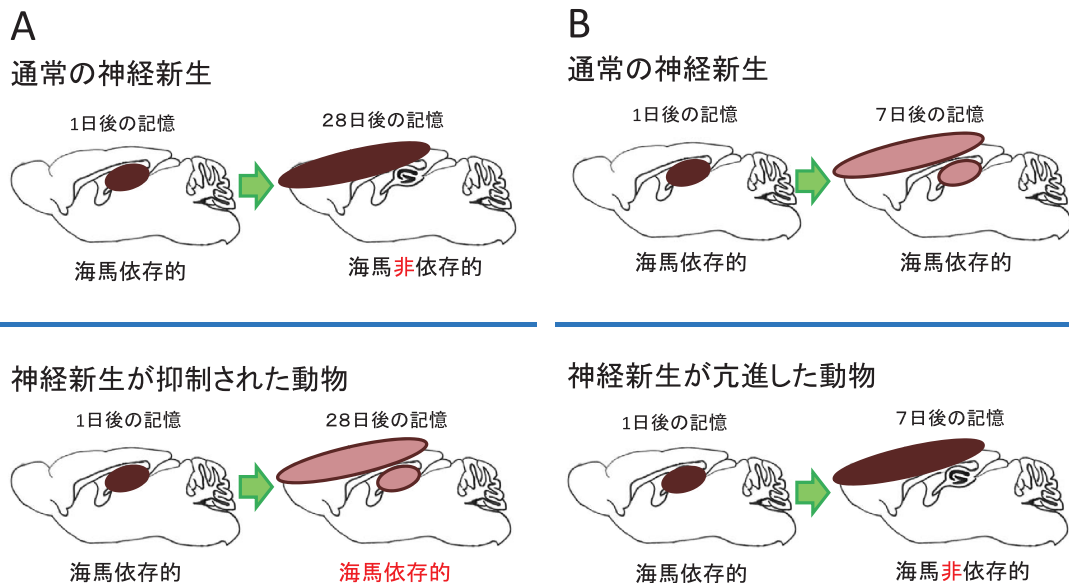


図9 神経新生による記憶の海馬依存性の制御

- A) 頭部へのX線照射や遺伝子改変により海馬の神経新生が抑制されたマウスでは、28日後の記憶でも想起するのに海馬の活動が必要である。
B) 通常のマウスでは、7日後の記憶想起は部分的に海馬依存性であるが、回し車の入ったケージ(豊富環境下)で飼育されたマウスでは、7日後の記憶想起は海馬を必要としなかった。
小さな楕円は海馬依存性を表す。

用機序に関しては不明な点が多い。それらの遺伝子産物の中では、転写因子に関して研究が進んでいる。例えば、転写因子 *cAMP* *responsible element binding protein* (CREB) は、アメフラシやハエ、マウスなどにおいて、長期記憶の形成に必要な転写因子であることが1990年代の半ばには知られていた⁵⁻⁷⁾。ノックアウトマウスを用いた研究から、*zif* 268 や *C/EBP* などの転写因子も長期記憶の形成に必要で

あることが明らかになっている^{8,9)}。

3. 長期記憶形成のメカニズムの概要

長期記憶が形成されるメカニズムについて、現在分かっていることの概略を図1にまとめた。自転車に乗ることができるようになるか、泳ぐことができるようになるといった身体で覚える記憶には小脳の働きが重要だが、それ

以外の記憶、例えば言葉で人に伝えることができるような記憶（エピソード記憶、陳述記憶などの、記憶といえば私たちが想定する記憶）は、最初は脳の海馬に蓄えられる。経験や学習に伴い記憶が獲得され、その記憶が海馬に固定化され保持されて長期記憶となる^{10,11)}。

興味深いことに、一度形成された記憶は想起に伴い不安定化し、その後タンパク質合成を伴いその記憶を再び固定化する過程（再固定化、reconsolidation）を経て強固になっていくことが最近発見された^{12,13)}。想起時、すなわち形成された記憶を思い出した時にタンパク質合成阻害剤を脳に注入すると、強固に形成された記憶でも減弱・消失する。一方、“消去学習（extinction）”というプロセスによっても恐怖記憶が減弱することが知られている¹⁴⁾。“消去学習による記憶の減弱現象”と“再固定化阻害による記憶の減弱”は、両者とも脳内におけるタンパク質の合成を必要とするが、関与する遺伝子やタンパク質に相違があると思われる。

こうして海馬に蓄えられた記憶も時間の経過とともに、想起するときに海馬を必要としない状態になっていく。記憶が海馬依存的な状態から海馬非依存的な状態に移行していくのである。マウスやラットでは～1ヶ月、ヒトでは数ヶ月から数年で海馬非依存的な状態になる^{10,11)}。このとき記憶は大脳皮質依存的な状態になると想定されている（図1）。このように海馬非依存的となった記憶も長期記憶ではあるが、特に遠隔記憶と呼ばれている。

4. シナプス可塑性と記憶

記憶は脳の中にどのように蓄えられているのだろうか？情報の処理を担当するニューロンは、他のニューロンとの間でシナプスを通じて情報のやり取りをしている。シナプスは状況に応じて信号の伝わり方を強くしたり弱くしたりする。脳は無数のスイッチを持つ回路から構成されていると言えよう。脳はニューロンを単位として信号を伝達していく回路である。ある経験により特定のシナプスでの信号の伝達効率が増えたり、ある経験にともない新たなシナプスが形成され信号の流れる回路が変わり、かつその変化した状態が保持されることが記憶の基盤をなすメカニズムであると考えられている。すなわち、使用に伴うシナプス部位の信号の伝達効率の変化（シナプスの可塑性）が、記憶を担っていると考えられている²⁾。

海馬のシナプスは使用に伴い信号の伝達効率を変化する性質を持っている。海馬へ入力している線維の貫通線維を電気的にテタヌス刺激（例えば100Hzや400Hzの電気刺激など）すると、この線維と歯状回のニューロン間のシナプス伝達効率が長時間にわたって増強する^{15,16)}（図2A, B）。この現象はシナプス伝達の長期増強（LTP）と呼ばれ¹⁷⁾、記憶現象の素過程であると考えられている。つまりこのシナプスはテタヌス刺激という経験をすることによ

り、その後の伝達効率が増加（この場合は増強）した。刺激（経験）の条件を変えることで伝達効率の減少を引き起こすこともできる（長期抑圧；LTD）¹⁸⁾。

興味深いことにLTPもその持続時間をみると2相性を持っている。数十分から数時間持続する短期の相（初期LTP, E-LTP）と数時間から数週間持続する長期の相（後期LTP, L-LTP）である^{19,20)}。記憶の場合と同様に、E-LTPの誘導には新たな遺伝子発現やタンパク質合成は必要ではないが、L-LTPには両者が必要である。

LTPは記憶の細胞レベルの基礎過程と考えられているが、そのことを示唆する実験結果の代表的なものを紹介しよう。タンパク質リン酸化酵素の一つのカルモジュリンキナーゼ（ α CaMK II）と呼ばれる酵素は、LTPの誘導に重要な働きをしている。この酵素の遺伝子を欠失したマウスを人為的に作製したところ、このマウスではLTPを誘導することができなかった²¹⁾。このマウスの記憶力をいくつかの学習課題で調べると、遺伝子を欠失していない野生型に比べ明らかに低下していた²²⁾。 α CaMK II以外にもLTPに重要な遺伝子は数多く知られているが、いずれの遺伝子も機能阻害してLTPが抑制される状態にすると、海馬依存的な記憶の形成に支障が出る^{23,24)}。一方で、私たちはタンパク質脱リン酸化酵素カルシニューリンを抑制することでLTPが亢進したラットを作製したが、ある種の学習課題の成績が向上していた^{25,26)}。こうした観察から、LTPが記憶の細胞レベルの素過程を反映していることはほぼ間違いないと思われる。

5. 長期記憶の形成に関わる分子

私たちの研究グループでは長年にわたり、長期記憶を担う遺伝子・分子群を単離して機能解析を行ってきた^{15,20,27-39)}。PCRディファレンシャルディスプレイ法を用いて、海馬のL-LTPに伴い発現が誘導される遺伝子を網羅的に探索した。これには脳に電極を慢性的に埋め込み、長期的にfield EPSPを観察できる*in vivo* LTP実験系を用いた^{15,16)}（図2）。ラットの嗅内皮質に刺激電極を、海馬歯状回に記録電極を刺入し、手術後、無麻酔自由行動下において、皮質から歯状回へ投射する貫通線維へのテタヌス刺激により歯状回でL-LTPを誘導した。表1に私たちのグループが同定した遺伝子の一覧を示す。これらの遺伝子群のうち、私たちは特に*ves1-1S*（VASP/*E*na-related family gene upregulated during seizure and LTP）^{29,30,34)}とアクチビン^{20,37-39)}にフォーカスを絞って研究を進めた。その理由は、これらの遺伝子が長期記憶の形成に重要であるためだけではなく、後述するように、記憶形成のメカニズムに関する重要な疑問を解く良き分子ツールとなるからである。

海馬を含めた興奮性ニューロンには、神経伝達物質の受け手側（ポストシナプス）にスパイン（棘）と呼ばれる構

表1 海馬のL-LTPに伴い発現が誘導される遺伝子群

分類	遺伝子
分泌タンパク質	<i>activin βA, BDNF</i>
細胞接着因子	<i>arcadlin</i>
グルタミン酸受容体	<i>AMPA R</i>
足場タンパク質	<i>narp, vesl-1S/homer-1a</i>
細胞内シグナル分子	<i>BAD2, Fnk, Snk, MAPK phosphatase</i> <i>Pim, RGS2, rheb</i>
細胞骨格タンパク質	<i>actin, arc, RB3, synaptopodin</i>
転写因子	<i>Egr3, GADD153, ler5, krox-20, NGFI-A/zif 268</i>
その他	<i>Ag2, cyclooxygenase 2, GAP-43, CR8</i>
(含機能未知)	<i>RM1, RM2, LIRF, tPA, Mt genes</i>

造体が存在する。スパインの先端部分にシナプスが形成され、受容体分子が裏打ちタンパクによって繋ぎ止められている。スパインの構造は、LTPを誘導する刺激で影響を受ける。Vesl-1Sタンパク質はシナプス後部（スパイン）で機能する代謝型グルタミン酸受容体（mGluR）、IP₃受容体結合タンパク質である。L-LTPに伴い細胞体で合成されスパイン部位に輸送される。私たちは *vesl-1S* ノックアウトマウスを作製して行動解析を行い、ホモノックアウトマウスが長期記憶に異常を示すことを見いだした³⁴⁾。

一方、アクチビンはTGFβスーパーファミリーに属するホルモン分子であり、赤芽球の分化促進作用や中胚葉誘導作用などを持つなど、細胞の分化・増殖に関わる因子として知られていた⁴⁰⁾。私たちは、アクチビンがスパインの形態を制御して、スパイン1個あたりにコンタクトするプレシナプス（神経終末）の数を増大させることを見いだした³⁸⁾（図3）。アクチビンは、神経応答を担う場であるスパインに対して、構造変化を引き起こすことが分かった。

6. 記憶が正確に保存される神経細胞の仕組み： シナプスタグ仮説の実証

6-1 背景と問題設定

長期記憶の分子メカニズムの研究を行っている私たち研究者には長年にわたり頭を悩ませる問題があった。それは、シナプス選択性とニューロンの細胞体におけるタンパク質合成の問題である。Vesl-1Sという分子が手に入ったことにより、この問題に切り込むことができるようになり、研究の新たな展開が可能となった。

ある出来事を経験して記憶が形成される時、シナプスを介したニューロン間の情報伝達効率が変化して長期記憶が形成されるが、この時はシナプスを介した情報伝達の効率変化も数日以上にわたって維持される。この時に細胞体で遺伝子発現の変化が起き、そこで合成されたタンパク質が樹状突起を經由してシナプス部に配達されて働くことで、伝達効率が長期的に変化する。これらの記憶関連タンパク質は、その記憶に対応した特定のシナプスだけに配達され、そのシナプスの伝達効率のみを長期的に変化させるこ

とで、長期記憶を正確に保存すると想定されている^{41,42)}。

ところが、一つのニューロンには数万個のシナプスがあるため、これらの記憶関連タンパク質がどのような仕組みで特定のシナプスだけに配達されるのかが未解決の大きな問題であった。たとえて言うなら、東京の中央郵便局（細胞体）から富山（特定のシナプス）宛に配達される郵便物が、沖縄や札幌には配達されずに、どのようにして富山という目的地に正確に配達されるのかという疑問である。郵便とは異なり、タンパク質自体には配達先情報は含まれていない。

この疑問に対する答えの一つとして、シナプスタグ仮説が提唱されている^{43~46)}。それによると、初めに出来事を経験した時に活動した特定のシナプスにシナプスタグと呼ばれる目印が付く。一方、細胞体で合成された記憶関連タンパク質はいったん全てのシナプスに輸送されるが、目印が付いたシナプスに配達されたものだけが目印に捕捉されて機能するという考えである。すなわち、郵便物は富山にも沖縄や札幌にも配達されるが、富山の郵便局だけがそれを開封するキーを持っているので読む（使用する）ことができるわけだ。

この仮説はFreyとMorrisによる以下のようなLTPを用いた巧妙な実験の結果に基づいている^{43~45)}（図4）。二つの異なる経路から入力を受けるニューロンにおいて、経路1（S1）のシナプスにL-LTPを誘導する強いテタヌス刺激を与えておくと、E-LTPしか誘導できないような弱いテタヌス刺激を与えた経路2（S2）のシナプスでもL-LTPが誘導された（2 pathway 実験）。これは経路1への強いテタヌス刺激によって細胞体で合成された記憶関連タンパク質（この場合は可塑性関連タンパク質；plasticity-related protein, PRPともいう）が、非選択的に細胞上の全てのシナプス部位に運ばれるが、その時に弱いテタヌス刺激でマーキングされた（シナプスタグ）経路2のシナプスにもそれらのタンパク質が機能的に取り込まれ（ハイジャック）、その結果、連合性L-LTPが誘導される、と解釈された（図4B）。シナプスタグのセッティングには遺伝子発現は必要でなく、一度セットされたシナプスタグは約2時間の半減

期を持つことが示されている。彼らの報告の後、多くの研究グループが電気生理学的な手法を用いて、シナプスタグ仮説の妥当性を示唆している⁴⁷⁾。しかしながら、いずれの報告も 2 pathway 実験の方法を用いているためにシナプスタグ仮説の直接の証明とはならず、この仮説はあくまで電気生理学的な実験結果を説明するための仮説に留まっていた。

脳の情報処理の正確さを細胞レベルで保証する仕組みをうまく説明する仮説としての重要性に鑑み、私たちはこの仮説の実証に取り組んだ。

6-2 Vesl-1S タンパク質を分子ツールとしてシナプスタグ仮説を検証

2 pathway 実験に頼らずにシナプスタグ仮説の妥当性を直接検証するには、L-LTP に伴い細胞体で合成された後に、入力を受けたシナプスに選択的に局在するタンパク質を見つけだし、そのタンパク質のニューロン内における局在変化がシナプスタグ仮説から予想される通りであることを示すことで検証できよう。

私たちは、(i) *vesl-1S* mRNA が L-LTP に伴い細胞体で転写誘導されること^{29,30,48)}、(ii) Vesl-1S タンパク質がポストシナプス部位に存在する代謝型グルタミン酸受容体や IP₃ 受容体と相互作用すること^{29,48~50)}、(iii) *vesl-1S* ノックアウトマウスは長期記憶に障害を示すこと³⁴⁾から、このタンパク質がシナプスタグ仮説を検証する良き分子ツールとなると想定し注目した。

Vesl-1S タンパク質に GFP を融合させた融合タンパク質をモニターとして、ラット脳の海馬の神経細胞に Vesl-1S タンパク質を発現させた。GFP 蛍光を指標として、この融合タンパク質の局在場所をリアルタイムで観察した⁵¹⁾。

その結果、(1)細胞体で合成されたタンパク質は、まず全ての樹状突起に万遍なく輸送されること、(2)シナプスが活動していない場合は、樹状突起部に留まっていること、(3)シナプスが活動した時は、活動したシナプスのスパインだけに選択的に取り込まれること、(4)取り込みは、記憶形成に重要であることが知られている NMDA 型グルタミン酸受容体により調節されていること (図 5) —— が分かった。これらの実験結果は、Vesl-1S タンパク質がシナプスタグ仮説から想定される細胞内局在を示すことを意味しており、シナプスタグ仮説が正しいことが初めて実証された⁵¹⁾。また、シナプスタグの実体は、樹状突起からスパインへのタンパク質の取り込みの制御であることも判明した⁵¹⁾ (図 6)。今回の発見で、記憶を正確に安定して保持するための仕組みが明らかになった。

6-3 シナプスタグの含蓄

シナプスタグ機構は、脳の情報処理の正確さを保証する根幹の仕組みと考えられるため、記憶の形成に限らず、脳がどのように感じ、覚え、考え、応答するのかわかるため

の研究に大きなインパクトを持つ。さらに、数多くの波及効果が期待できる。異なる出来事の複数の特徴を一つにまとめて覚えることにより連合記憶ができるが、シナプスタグ機構は連合記憶の保持に必要と思われる (図 6)。このような機構が、例えば、「印象的な出来事と一緒に日常的な出来事までが長い間記憶に残る」といった長期記憶の連合現象の生体内機構となっているかもしれない。統合失調症などの精神疾患の症状には、記憶の連合が不正確になり事実と異なる組み合わせで記憶をつなぎ合わせるものが原因となっていると想定されるものもあるため、シナプスタグ機構を制御する薬を開発することにより、統合失調症などの改善薬になる可能性がある。

7. 記憶の再固定化の分子メカニズム

7-1 背景と問題設定

長期間持続する L-LTP の形成過程において、シナプスの形態、特にスパインの形態制御が重要な役割を果たしている^{16,52)}。アクチビンが L-LTP に伴い発現誘導され、かつ、スパイン形態を調節していることから、私たちは、アクチビンは長期記憶形成のさまざまな段階で機能していると想定した⁵³⁾。

上述したように、記憶の形成は、学習—獲得—保持—想起、さらには再固定化や消去学習などの異なる段階を経る (図 1)。「アクチビンが、それぞれの段階でどのような役割を果たしているのか？」という問題を解くには、通常の遺伝子改変ではなく時間的制御が可能であり、かつ脳特異的な制御が可能な遺伝子改変動物が求められる。

この目的を達成するために、私たちは脳特異的かつ任意の時期にアクチビンやフォリスタチン (アクチビン阻害タンパク質) の発現を制御できるアクチビンやフォリスタチン発現マウスを世界で初めて作製した²⁰⁾。具体的には、前脳特異的なプロモーターの α CaMK II プロモーターと TetOFF システムを利用して、DOX 投与により前脳特異的にアクチビン、あるいはフォリスタチンの発現を ON/OFF できるアクチビンおよびフォリスタチン発現マウスを作製した。

7-2 電気生理学的実験

作製した脳内アクチビンが阻害されたマウスでは、海馬の短期型 LTP (E-LTP) は正常だったが、長期型 LTP (L-LTP) の形成が阻害されていた²⁰⁾。次に、E-LTP を誘導するテタヌス刺激の前に精製アクチビンを投与した。その結果、通常 4 時間ぐらいの持続時間しか示さない E-LTP を 9 時間程度へ延長させる効果がみられた。しかし、L-LTP のような 24 時間の持続は示さなかった。従って、アクチビンは L-LTP 形成の必須因子ではあるが十分因子ではないことが明らかとなった。

7-3 恐怖条件付けテスト²⁰⁾

マウスを電線が敷いてある箱の中に入れ、その電線から弱い電気ショックを与えることで、箱と電気ショックの連合記憶（恐怖記憶）を形成させた。すなわち、マウスはその箱が危険であることを覚え、再び同じ箱の中に入られると、すくみ反応を示すようになる。箱とショックの連合記憶を忘れたマウスは、同じ箱に入れられてもすくみ反応を示さない。すくみ反応を観察することで、恐怖記憶を覚えているか否かを判定することができる。この恐怖条件付けは、海馬依存的な学習である。

恐怖記憶が形成される時に脳内アクチビンを阻害すると、30分間の短期記憶形成には異常が認められなかったが、1日以上持続する長期記憶の形成が阻害された（図7A, 実験条件A）。

次に、恐怖記憶が形成された後に、記憶の再固定化が起きる条件下で恐怖記憶を想起させた（図7A, 実験条件B）。想起時（テスト1）に脳内アクチビンを阻害すると、その24時間後（テスト2）にはすくみ行動が減弱した。すなわち、恐怖記憶の再固定化が阻害され、恐怖記憶が減弱した。

最後に、恐怖記憶が形成された後に、消去学習が起きる条件下で恐怖記憶を想起させた（図7B）。通常のマウスでは、すくみ反応は減弱し（テスト2）、消去学習が起こる。これに対して、想起時（テスト1）に脳内アクチビンが増大したマウスでは、その24時間後（テスト2）のすくみ反応には変化が見られず（実験条件C）、想起された恐怖記憶は消去されにくくなった。すなわち、消去学習の阻害が観察された。

記憶の再固定化が起きる実験条件下では、いったん強固に形成された恐怖記憶でも想起時に脳内アクチビンを阻害すると、その後、恐怖記憶が減弱すること、また、消去学習が起きる実験条件下では、想起時に脳内アクチビン量を増やすと消去学習が抑制され、いったん形成された恐怖記憶が消去されにくくなることが分かった²⁰⁾。これらの結果から、脳内アクチビンは恐怖記憶の再固定化と消去学習の両方を制御していること、すなわち、恐怖記憶の想起時の脳内アクチビン活性が、想起された恐怖記憶のその後の運命決定に重要な役割を持つことが明らかになった²⁰⁾。

7-4 固定化と再固定化

このようにアクチビンは記憶の固定化と再固定化の両方に必要であることが分かった。転写因子のCREBやNF- κ Bも記憶の固定化と再固定化の両方に必要なことが報告されている^{34,55)}。では、記憶の固定化に必要な因子は、すべて再固定化においても必要なのだろうか？ 答えはノーである。海馬において転写因子C/EBP β や神経栄養因子BDNFは記憶の固定に必要であるが、再固定化には必要ない^{56,57)}。また逆に、海馬での転写因子zif268の発現誘導は記憶の固定化には必要ではないが、再固定化には必

要であることが示されている⁵⁷⁾。これらの結果は、記憶の固定化と再固定化の分子メカニズムの一部は重複するが、まったく同じではないことを意味する。

7-5 再固定化の意味

我々を含め多くの動物種は、なぜこのような再固定化というプロセスをわざわざ経て記憶を形成するのであるか？ 想起に伴いいちいち記憶が不安定化するのは危険であるし、わざわざ不安定化させて再固定化するのはエネルギーの無駄のように見える。現在のところ、この問いに対する明快な解答はなされていないが、幾つかの予想は可能である¹³⁾。

一つは、再固定化を通じて記憶を強化する可能性である⁵⁸⁾。繰り返し学習することが効率的な勉強法であることは誰も経験するところなので、この説明は説得力を持つ。

もう一つの可能性は、記憶を思い出すときに「その記憶」を不安定化することで、似たような「他の記憶」と組み合わせ固定化したり、新たな経験による「古い記憶」の修正を行ったりすることに関与しているというものである^{13,59)}。これは、関連のある記憶を組み合わせることで、質的に新しい情報を作り出していくこと、すなわち「知識の形成」に繋がるという点で、人間らしさに迫ることができるという期待を抱かせる。今後の研究の展開に期待したい。

8. 神経新生と海馬依存的な記憶の制御

長年研究をしていると、全く想定外の結果を得ることがある。実験手技や実験の組み方がまずくて誤った結果を導く場合がほとんどであるが、まれに新しい発見に繋がるケースもある。記憶形成における神経新生の新たな役割の発見はその一例である^{60,61)}。

8-1 背景と問題設定

ヒトを始め、サル、ラット、マウスなど多くの動物種において、海馬では脳の発生が終了した大人においても、新しい神経細胞が絶え間なく生産され続けている⁶²⁾。新たに誕生した神経細胞は、歯状回の顆粒細胞として機能的に神経回路に組み込まれる（神経新生）。多くの先行研究によって、海馬の神経新生が記憶の獲得や気分障害に関与することが指摘されている。

例えば、脳へのX線照射などにより生後脳の神経新生が抑制されたマウスやラットでは、海馬依存的な記憶の獲得が阻害されるという実験結果が、2000年以来多くの研究室から報告されている^{63,64)}。ところが、新生ニューロンがどのようにして記憶の獲得に関与するのかの分子・細胞レベルのメカニズムは全く分かっていなかった。そこで私たちは、LTPを記憶の細胞レベルのモデルとして用いて、海馬神経回路への新生ニューロンの組み込みがLTP誘導に与える影響を解析することで、新生ニューロンが記憶の

「獲得」に関与するメカニズムを明らかにすることを目指した⁶⁰⁾.

8-2 海馬の神経新生と海馬 LTP

この実験では前述した *in vivo* の無麻酔自由行動下の、より生体に近い条件下での海馬歯状回 LTP 実験系^{15,16)}を用いた。ラットの頭部に限局して X 線照射を行い、増殖性細胞を死滅させることで海馬神経新生を抑制した後、通常のラットでは LTP を誘導できるテタヌス刺激を貫通線維に与え、fEPSP を測定することでシナプスの伝達効率を解析した⁶⁰⁾ (図 8)。当初の目論見では、X 線照射ラットでは LTP の誘導が抑制されるだろうから、その時にどのような分子・細胞メカニズムが働いているのかをこの実験系を用いて解析する予定であった。ところが、予想に反して、X 線照射群でも LTP は正常に誘導され、その増強程度にも影響はなかった。

ここであきらめずに測定を続けたところ、コントロール群では LTP は時間と共に減衰し、テタヌス刺激後 2 週間では LTP は認められなくなった。しかし、全く予想外だったことに、X 線照射群では、LTP の減衰が遅く、いったん誘導された LTP は 3 週間以上持続していた (図 8)。この結果は、海馬内でニューロンが新生し続けることで、海馬の LTP が減衰していくことを示している⁶⁰⁾。

8-3 海馬の神経新生と海馬依存的な記憶の制御

第 3 章でも述べたが、多くの記憶は海馬に蓄えられたあと、時間の経過に伴い想起に海馬を必要としない状態へと移行する (遠隔記憶)。記憶が海馬依存的な状態から海馬非依存的な状態へと移行するメカニズムについては、魅力的な仮説はいくつか提唱されているものの、確かな答えは未だ分かっていなかった。遠隔記憶が形成される過程には、当然のことながら海馬からの記憶の消去と記憶の保存場所の移行を伴う。

想定外の LTP 実験の結果から、私たちは、海馬神経回路内で、次々とニューロンが生産され続ければ、新生したニューロンが既存の神経回路へ組み込まれてゆくことで、これまで海馬神経回路内で保持されていた記憶情報が攪乱され、消失するのではないかという新しいアイデアを得た⁶⁰⁾。そこで、生後の海馬の神経新生を人為的に抑制、あるいは亢進させたときに、記憶の海馬依存性がどのような影響を受けるのかを解析した。

記憶の想起が海馬依存的であるか否かを検討するために文脈性恐怖条件付けを行った。マウスを箱に入れ足下の電線から電気ショックを与えて、箱と恐怖の連合学習をさせ、一定時間経過後に、神経活動を不活性化する薬剤 (フグ毒のテトロドトキシン) を海馬に注入し、直後にその恐怖記憶を想起できるか否かを調べた。すなわち、海馬の神経活動が不活性化状態でも恐怖記憶を想起すればその記憶は海馬非依存的になっており、想起できなければ海馬依存的な状態であることが分かる。

はじめに、頭部へ限局した X 線照射処置を受けて海馬の神経新生がほぼ消失したマウスは、恐怖記憶の海馬依存的期間が長くなっていた (図 9)。フォリスタチンを前脳特異的に過剰発現させ海馬の神経新生が大きく低下した遺伝子改変マウス (FSM マウス) でも同様に、恐怖記憶の海馬依存的期間が長くなっていた。一方、回し車を入れた豊富環境で飼育されて海馬の神経新生が 2 倍程度になったマウスでは、恐怖記憶の海馬依存的期間が短縮されていた (図 9)。

以上のそれぞれ独立した関連の実験結果から、海馬の神経新生の活発さが恐怖記憶の海馬依存的期間を決定する重要な要因の一つであることを、世界に先駆けて明らかにした⁶⁰⁾。

8-4 医学応用への展開

8-4 医学応用への展開

これらの研究成果は、海馬の神経新生を適切に制御することで、恐怖記憶を制御する脳部位をコントロールできることを示唆しており、恐ろしい体験などで精神的に外傷を受けることが引き金となる心的外傷後ストレス障害 (PTSD) を初めとする、トラウマ記憶が原因となって発症する精神疾患の新たな予防法や治療法の開発への展開が期待される。実際に、交通事故などで入院した身体外傷患者に神経新生を促進する作用のある $\omega 3$ 系不飽和脂肪酸を 12 週間投与すると、非投与群に比べて、PTSD の診断と症状を客観的に評価する国際的な標準尺度である clinician-administered PTSD scale (CAPS) スコアが有意に減少したという⁶⁵⁾。この結果は、受傷後早期からの $\omega 3$ 系不飽和脂肪酸投与が PTSD の発症予防に有効である可能性を示唆している。

9. おわりに

本稿では記憶形成の分子・細胞メカニズムについて、主に私たちの研究成果を基にして解説した。ここに記載したように、物理科学的手法を用いて、記憶の分子・細胞メカニズムは徐々に解明され始めている。しかしながら、記憶のメカニズムの完全な理解にはほど遠い。拙稿を読んだ若い人たちの中から、記憶のメカニズムの研究に興味を持つ人が出てきて、新しいパラダイムの創出を通じて記憶のメカニズムを完全に解明する日が来ることを祈って、原稿を閉じたい。

文 献

- 1) Penfield, W. (1958) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 44, 51-66.
- 2) 井ノ口馨 (2009) 脳と記憶. (浅島 誠, 黒岩常祥, 小原雄治編) 脳神経生物学, pp. 69-108, 岩波書店, 東京.
- 3) Davis, H.P. & Squire, L.R. (1984) *Psychol. Bull.*, 96, 518-559.

- 4) Kandel, E.R. (2001) *Science*, **294**, 1030–1038.
- 5) Dash, P.K., Hochner, B., & Kandel, E.R. (1990) *Nature*, **345**, 718–721.
- 6) Bourchouladze, R., Frenguelli, B., Blendy, J., Cioffi, D., Schutz, G., & Silva, A.J. (1994) *Cell*, **79**, 59–68.
- 7) Yin, J.C., Wallach, J.S., Del, V.M., Wilder, E.L., Zhou, H., Quinn, W.G., & Tully, T. (1994) *Cell*, **79**, 49–58.
- 8) Alberini, C.M., Ghirardi, M., Metz, R., & Kandel, E.R. (1994) *Cell*, **76**, 1099–1114.
- 9) Jones, M.W., Errington, M.L., French, P.J., Fine, A., Bliss, T. V., Garel, S., Charnay, P., Bozon, B., Laroche, S., & Davis, S. (2001) *Nat. Neurosci.*, **4**, 289–296.
- 10) Wiltgen, B.J., Brown, R.A., Talton, L.E., & Silva, A.J. (2004) *Neuron*, **44**, 101–108.
- 11) Frankland, P.W. & Bontempi, B. (2005) *Nat. Rev. Neurosci.*, **6**, 119–130.
- 12) Nader, K., Schafe, G.E., & Le Doux, J.E. (2000) *Nature*, **406**, 722–726.
- 13) Tronson, N.C. & Taylor, J.R. (2007) *Nat. Rev. Neurosci.*, **8**, 262–275.
- 14) Myers, K.M. & Davis, M. (2002) *Neuron*, **36**, 567–584.
- 15) Matsuo, R., Murayama, A., Saitoh, Y., Sakaki, Y., & Inokuchi, K. (2000) *J. Neurochem.*, **74**, 2239–2249.
- 16) Fukazawa, Y., Saitoh, Y., Ozawa, F., Ohta, Y., Mizuno, K., & Inokuchi, K. (2003) *Neuron*, **38**, 447–460.
- 17) Bliss, T.V. & Collingridge, G.L. (1993) *Nature*, **361**, 31–39.
- 18) Collingridge, G.L., Peineau, S., Howland, J.G., & Wang, Y.T. (2010) *Nat. Rev. Neurosci.*, **11**, 459–473.
- 19) Adams, J.P. & Dudek, S.M. (2005) *Nat. Rev. Neurosci.*, **6**, 737–743.
- 20) Ageta, H., Ikegami, S., Miura, M., Masuda, M., Migishima, R., Hino, T., Takashima, N., Murayama, A., Sugino, H., Setou, M., Kida, S., Yokoyama, M., Hasegawa, Y., Tsuchida, K., Aosaki, T., & Inokuchi, K. (2010) *Learn. Mem.*, **17**, 176–185.
- 21) Silva, A.J., Stevens, C.F., Tonegawa, S., & Wang, Y. (1992) *Science*, **257**, 201–206.
- 22) Silva, A.J., Paylor, R., Wehner, J.M., & Tonegawa, S. (1992) *Science*, **257**, 206–211.
- 23) Barnes, C.A. (1995) *Neuron*, **15**, 751–754.
- 24) Rumpel, S., LeDoux, J., Zador, A., & Malinow, R. (2005) *Science*, **308**, 83–88.
- 25) Ikegami, S. & Inokuchi, K. (2000) *Neuroscience*, **98**, 637–646.
- 26) Ikegami, S., Kato, A., Kudo, Y., Kuno, T., Ozawa, F., & Inokuchi, K. (1996) *Mol. Brain Res.*, **41**, 183–191.
- 27) Inokuchi, K., Kato, A., Hirai, K., Hishinuma, F., Inoue, M., & Ozawa, F. (1996) *FEBS Lett.*, **382**, 48–52.
- 28) Inokuchi, K., Murayama, A., & Ozawa, F. (1996) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **221**, 430–436.
- 29) Kato, A., Ozawa, F., Saitoh, Y., Fukazawa, Y., Sugiyama, H., & Inokuchi, K. (1998) *J. Biol. Chem.*, **273**, 23969–23975.
- 30) Kato, A., Ozawa, F., Saitoh, Y., Hirai, K., & Inokuchi, K. (1997) *FEBS Lett.*, **412**, 183–189.
- 31) Matsuo, R., Asada, A., Fujitani, K., & Inokuchi, K. (2001) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **289**, 479–484.
- 32) Matsuo, R., Kato, A., Sakaki, Y., & Inokuchi, K. (1998) *Neurosci. Lett.*, **244**, 173–176.
- 33) Yamazaki, M., Matsuo, R., Fukazawa, Y., Ozawa, F., & Inokuchi, K. (2001) *J. Neurochem.*, **79**, 192–199.
- 34) Inoue, N., Nakao, H., Migishima, R., Hino, T., Matsui, M., Hayashi, F., Nakao, K., Manabe, T., Aiba, A., & Inokuchi, K. (2009) *Mol. Brain*, **2**, 7.
- 35) Niibori, Y., Hayashi, F., Hirai, K., Matsui, M., & Inokuchi, K. (2007) *Neurosci. Res.*, **57**, 399–410.
- 36) Okubo-Suzuki, R., Okada, D., Sekiguchi, M., & Inokuchi, K. (2008) *Mol. Cell. Neurosci.*, **38**, 266–276.
- 37) Sekiguchi, M., Hayashi, F., Tsuchida, K., & Inokuchi, K. (2009) *Neurosci. Lett.*, **452**, 232–237.
- 38) Shoji-Kasai, Y., Ageta, H., Hasegawa, Y., Tsuchida, K., Sugino, H., & Inokuchi, K. (2007) *J. Cell. Sci.*, **120**, 3830–3837.
- 39) Ageta, H., Murayama, A., Migishima, R., Kida, S., Tsuchida, K., Yokoyama, M., & Inokuchi, K. (2008) *PLoS ONE*, **3**, e1869.
- 40) Tsuchida, K., Nakatani, M., Hitachi, K., Uezumi, A., Sunada, Y., Ageta, H., & Inokuchi, K. (2009) *Cell Commun. Signal*, **7**, 15.
- 41) 井ノ口馨 (2000) 蛋白質 核酸 酵素, **45**, 331–337.
- 42) 岡田大助, 井ノ口馨 (2006) 実験医学, **24**, 2355–2361.
- 43) Frey, U. & Morris, R.G. (1997) *Nature*, **385**, 533–536.
- 44) Frey, U. & Morris, R.G. (1998) *Neuropharmacology*, **37**, 545–552.
- 45) Frey, U. & Morris, R.G. (1998) *Trends Neurosci.*, **21**, 181–188.
- 46) Martin, K.C., Casadio, A., Zhu, H., E, Yaping., Rose, J.C., Chen, M., Bailey, C.H., & Kandel, E.R. (1997) *Cell*, **91**, 927–938.
- 47) Wang, S.H. & Morris, R.G. (2010) *Annu. Rev. Psychol.*, **61**, 49–79, C41–44.
- 48) Brakeman, P.R., Lanahan, A.A., O'Brien, R., Roche, K., Barnes, C.A., Huganir, R.L., & Worley, P.F. (1997) *Nature*, **386**, 284–288.
- 49) Hwang, S.Y., Wei, J., Westhoff, J.H., Duncan, R.S., Ozawa, F., Volpe, P., Inokuchi, K., & Koulen, P. (2003) *Cell Calcium*, **34**, 177–184.
- 50) Westhoff, J.H., Hwang, S.Y., Duncan, R.S., Ozawa, F., Volpe, P., Inokuchi, K., & Koulen, P. (2003) *Cell Calcium*, **34**, 261–269.
- 51) Okada, D., Ozawa, F., & Inokuchi, K. (2009) *Science*, **324**, 904–909.
- 52) 井ノ口馨, 斎藤喜人 (2004) 蛋白質 核酸 酵素, **49**, 282–286.
- 53) 上田洋司, 井ノ口馨 (2008) 細胞工学, **27**, 1139–1145.
- 54) Kida, S., Josselyn, S.A., de Ortiz, S.P., Kogan, J.H., Chevere, I., Masushige, S., & Silva, A.J. (2002) *Nat. Neurosci.*, **5**, 348–355.
- 55) Lubin, F.D. & Sweatt, J.D. (2007) *Neuron*, **55**, 942–957.
- 56) Taubenfeld, S.M., Milekic, M.H., Monti, B., & Alberini, C.M. (2001) *Nat. Neurosci.*, **4**, 813–818.
- 57) Lee, J.L., Everitt, B.J., & Thomas, K.L. (2004) *Science*, **304**, 839–843.
- 58) Lee, J.L. (2008) *Nat. Neurosci.*, **11**, 1264–1266.
- 59) Debiec, J., Doyere, V., Nader, K., & LeDoux, J.E. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 3428–3433.
- 60) Kitamura, T., Saitoh, Y., Takashima, N., Murayama, A., Niibori, Y., Ageta, H., Sekiguchi, M., Sugiyama, H., & Inokuchi, K. (2009) *Cell*, **139**, 814–827.
- 61) 北村貴司, 井ノ口馨 (2010) 実験医学, **28**, 732–739.
- 62) Zhao, C., Deng, W., & Gage, F.H. (2008) *Cell*, **132**, 645–660.
- 63) Shors, T.J., Miesegaes, G., Beylin, A., Zhao, M., Rydel, T., & Gould, E. (2001) *Nature*, **410**, 372–376.
- 64) Lledo, P.M., Alonso, M., & Grubb, M.S. (2006) *Nat. Rev. Neurosci.*, **7**, 179–193.
- 65) Matsuoka, Y., Nishi, D., Yonemoto, N., Hamazaki, K., Hashimoto, K., & Hamazaki, T. (2010) *J. Clin. Psychopharmacol.*, **30**, 217–219.