



脳内における記憶関連部位の検索（研究）

山鳥, 崇
杉岡, 幸三
中村, 聡子
梅谷, 健彦

(Citation)

神戸大学医学部神緑会学術誌, 2:90-94

(Issue Date)

1986-06

(Resource Type)

departmental bulletin paper

(Version)

Version of Record

(JaLCD0I)

<https://doi.org/10.24546/81007027>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/81007027>



脳内における記憶関連部位の検索

神戸大学医学部解剖学第一講座

山 鳥 崇 杉 岡 幸 三
中 村 聡 子 梅 谷 健 彦

緒 言

脳内における記憶関連部位の研究は、基礎医学の分野においては今まで主として生理学的な微小電極法を用いて行われてきたが、脳全体の記憶に関する活動をみるという試みは最近までなされたことがなかった。他方心理学の分野においては、記憶に関する行動学的研究が主として条件反射（応）を用いて数多くなされ、条件反射学なる分野を作ってきたものの、脳はあくまでブラックボックスとされ、生理学的、形態学的検討はなおざりにされてきた感があった。これらの原因はこのブラックボックスを開ける手段が微小電極法以外になかったことにあると思われる。

しかしながら1977年に Sokoloff ら¹²⁾ が¹⁴Cをくっつけたdeoxyglucoseを用いて脳内の活動部位をオートラジオグラフ上で示すという方法を開発して以来、種々の状態における脳の活動を連続切片上で絵にして見ることが可能になった。我々はこの方法を用いて脳内の記憶関連部位を探るということを企て、過去4年間実験を繰り返してきたが、今回神緑会から学術助成金をいただき、またそのため本誌に研究の成果を発表する機会を与えられたので、この研究における最新の成果を紹介させていただきたいと思う。

材料と方法

実験動物としては体重300g前後のウイスター系の雄のラットを用いた。

実験方法の大要は、まず動物に条件刺激（以下CS）と無条件刺激（以下US）を用いて、パブロフ型の古典的条件づけを施し、条件づけが完成されたと考えられる時点において、^[14C] 2-deoxyglucose（以下2-DG）を動物に静注し、今度はCSのみを3回与える、すると動物はUSが次に来るということを想起するので、脳内の記憶関連部位が活動をはじめ、この時に動物を殺して直ちに脳をとり出し、凍結して切片にし、この切片をオートラジオグラフにすると、活動部位に¹⁴Cを持った

deoxyglucose がとり込まれているので活動部位が同定出来る、というものである。これは deoxyglucose は glucose と同様に活動している組織にとり込まれるが、glucose のように直ちに分解して水と二酸化炭素にならないという性質を利用したものである。

条件づけに用いた刺激は、CSとして点滅光（実験箱の天井にある10Wの電灯の点滅—0.5秒点、0.5秒減—の25回の繰り返しを1回の刺激とする）、USとして1秒間の電撃（150V—250 KOhm の抵抗を通したものを—を実験箱の床のグリッドに与える）であった。このような刺激を対にしたり、ランダムにしたり、また回数を変えて動物に与えた。すなわち今まで実験に用いた動物群は次のような組み合わせのものであった。

CSE群—CSとUSを対にして（CSの最後の1秒間にUSを与える）25回与えたもの。

CSC群—CSのみを25回与えたもの。

CSR群—CSとUSを無作為に25回与えたもの。但しUSの時期はCSE群のそれに一致させた。

CSE'群—CSとUSを対にして50回与えたもの。

CSR'群—CSとUSを無作為に50回与えたもの。

但しUSの時期はCSE'群のそれに一致させた。

但し、CSE群とCSC群の比較についてはすでに発表した¹⁴⁾ ので、今回はCSR、CSE'、CSR'の3群に関する実験と、その検討について報告する。用いた動物はCSE'群とCSR'群で5匹づつ、CSR群では4匹であった。すなわち今回は14匹のラットを用いた。このうち条件づけ群はCSE'群であり、CSRとCSR'群は対照群であった。すなわち、CSRとCSR'群はCSとUSを対にせず無作為に与えることによって、これらの刺激を記憶で結びつけないようにし、CSとUSに対する反応部位のみをみようとした群である。試行回数が25回と50回になっているのは、最初25回で実験を行

い、一応の結果を得たものの、25回試行の無作為対照群を作ったところ、この群(CSR群)において偽条件づけあるいは過敏化の状態があらわれたと考えられる結果が生じ、CSとUSを完全に分離させるには25回の試行では不十分と考えられたので、試行回数を50回にして今回の実験を行ったのである。

この実験の原理は簡単であるが、心理学的な条件づけ方法の設定、オートラジオグラフの作製、および作製したオートラジオグラフにおける脳内構造物の区分やその濃度の測定、データの処理等はそれほど簡単ではなく、一つ一つの問題解決に時間を要した。しかしこれらの実験方法の細部については省略する。ただオートラジオグラフの microphotodensitometer で測定された単位面積あたりの濃度はすべて白質(脳梁)の濃度の比(ODR = optical density ratio)として算出し、これで比較した。これはこの方が ^{14}C の量、フィルムの現像条件、切片の厚さ等の変動を消すことが出来るので、濃度そのもので比較するよりは正確な結果が得られると考えられたのである。また測定された単位面積は、 $200\mu\text{m} \times 200\mu\text{m}$ であった。また各群間におけるそれぞれの構造物のODRの比較は Student の t-検定を用いて行った。濃度の測定はすべて左大脳半球で行った。

結果

〈中脳と橋の核〉

この領域においては13の構造物について検討した。すなわち視蓋前域(P T)、上丘、下丘、黒質、赤核、Darkschewitsch 核とその周辺、脚間核、動眼神経核、背側被蓋核、腹側被蓋核、中脳縫線核、上オリブ核、および外側毛帯核(NLL)である。

先づCSE'群とCSR'群の各核のODRをt-検定で比較すると、視蓋前域(P T)と外側毛帯核(NLL)が有意に高い傾向のODR($P < 0.10$)を示したが、その他の核にはこのような差はみられなかった。この場合外側毛帯核(NLL)にODRの高い傾向がみられたが、この核を吻側から尾側まで完全にその全長にわたって測定し得た例はなかったので、早急にこの核のODRが高かったとは判定しがたいと考えられる。またCSR群とCSR'群を比較すると、上丘(CS)のODRがCSR群において有意に高い傾向($P < 0.10$)を示した。

〈基底核と視床下部及び視床腹側部の核〉

この領域においては、新線条体(尾状核と被殻)、旧線条体(淡蒼球)、扁桃核、視索前野大細胞核、乳頭核、視床下核(SUT)、および不確帯(ZI)の7つの構造物についてそのオートラジオグラフ切片上の単位面積あたりの濃度を測定し、ODRを求めた。この結果CSE'群とCSR'群の間では、視床下核(SUT)と不確

帯(ZI)においてCSE'群のODRが、CSR'群のそれよりも有意に高かった($P < 0.05$)。またCSR群とCSR'群との比較においては、ODRに有意の差を示す核はみられなかった。

〈視床と視床上部〉

この領域においては、視床の前核群、紐帯核、外側核、腹側核、内側核、外側核後部、後核、網様核、束帯核、外側膝状体背側核、外側膝状体腹側核、内側膝状体、および視床上部に属する手綱核(Hb)の13の核の濃度を測定しそのODRを求めた。その結果CSE'群とCSR'群とを比較すると、手綱核(Hb)のODRがCSE'群において有意に高い傾向($P < 0.10$)を示した。またCSR群とCSR'群との比較においてもやはり手綱核(Hb)のODRが、CSR群において有意に高い値($P < 0.05$)を示した。このような高い値を示す核は手綱核のなかでも外側核であって、内側核の濃度は常に低かった。しかし手綱核は全体として測定されたので、外側核のみの濃度を測定し直す必要があるように思われる。

〈終脳の皮質領野〉

終脳の皮質領野に関しては、海馬体を除く19の領野について濃度を測定しODRを求めた。すなわち第24、10、6、23、29b、29c、4、3、1、2、2a、7、39、40、41、17、18、18a、36の各野である。測定をこれらの領野に限定したのは、ラットにおいては脳溝を欠くこともあって各皮質野の同定がむづかしくこの為背側面における Krieg の皮質区分図⁴⁾をそのまま実験ラットの脳の背側面に移すという方法を用いたからである。つまり背側面に投射される皮質野の濃度のみを測定して、内側面および外側面に投射されて背側面に投射されない領野は測定しなかったのである。複数の投射図を用いて区分を行うと、皮質野の境界にくい違いが生じる為このような方法をとった次第である。

これら皮質野のODRをCSE'群とCSR'群の間で比較すると、第24野においてCSE'群におけるODRが有意に高かった($P < 0.05$)。また第6、39、18野においてはやはりCSE'群のODRがCSR'群のそれらの領野のODRに対して有意に高い傾向($P < 0.10$)を示した。またCSR群とCSR'群を比較したところ、第7野、第39野、第40野のODRがCSR群においてCSR'群のODRに対して有意に高く($P < 0.05$)、第24、10、41、17、18、18a野のODRがCSR'群のそれぞれの野のODRに対して有意に高い傾向($P < 0.10$)を示した。第10野に関しては、CSR群では全領野の濃度を測定せず、尾側部の濃度のみを測定した。従ってCSR群とCSR'群との比較では第10野に関する限り正確な

比較はなされていないと考えられる。

〈海馬体〉

海馬体は今まで多くの人々によって記憶と関係があると言われてきた部位である。また事実最初に行ったCSE群とCSR群の比較においても海馬体全体のODRにCSE群において高い傾向が見出された。従ってこれをさらに歯状回(GD)と海馬分子層、およびその他の海馬体領域(AH)の3つの部分に区分してその濃度を測定してODRを算出したわけである。

その結果CSE'群とCSR'群を比較するとやはり前回の比較と同様歯状回(GD)のODRが有意に高い傾向($P < 0.10$)がみられた。さらにまたCSR群とCSR'群とを比較すると、CSR群における歯状回(GD)と海馬野(AH—海馬体から歯状回と海馬分子層を除いた部分)のODRが有意に高かった($P < 0.05$)。海馬の分子層は海馬体の3区分のなかで最も高い2-DGのとり込みを示したが、対照群においてもその傾向があったので、統計学的な差を示す部位とはならなかった。

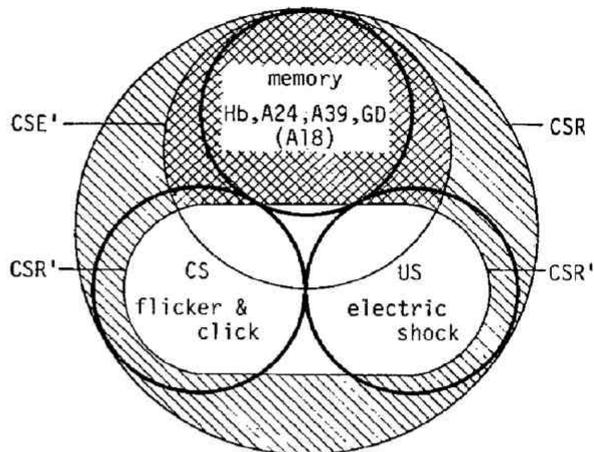
考 察

2-DG法は最初に述べたように、活動している脳の部位を2-DGのとり込み増加部位として示す方法である。従ってODRの高い部位が2-DGのとり込みの多かった部位、すなわち動物を殺した時点において活動している部位であると考えられる。このような考え方に基いて結果を考察すると、先ずCSE'群とCSR'群の比較であるが、これは50回の試行で条件づけがほぼ完全になされた群と、条件刺激(点滅光とそれに伴うチカチカという小さな音)と無条件刺激(150Vの電撃)を同回数無作為に与えて条件刺激(CS)に反応する部位と無条件刺激(US)に反応する部位のみの活動をみよとした群との比較である。従って両群間のt-検定の結果は、脳内における記憶に関与する部位をみていると考えられる。つまり条件づけによって、CSとUSを或程度信号化し(CSとUSに対する反応領域を或程度除外し)記憶に関連している領野が主として反応していると考えられる群と、CSとUSを無作為(ランダム)に与えることによって、主としてCSとUSにのみ反応している(この場合これらの反応領野は馴れの効果によって本来の反応領域より小さくなっていると考えられる)群との比較であるので、その差は記憶関連領野であるということが考えられる(Fig. 1参照)。

CSR群は25回のCSとUSを無作為に与えた群であるが、25回では完全にCSとUSを無関係な刺激として分離するのがむつかしく、動物に対して偽条件づけの状態を起させ、刺激に対して過敏な状態にした群と考えられる。従って初期の目的を達し得なかったが、これを過

Fig. 1

Conceptual schema of brain structures thought to be related to memory



敏化(感作)群として検討することにし、今回の無作為試行50回のCSR'群との比較を行った。従ってこのCSR群とCSR'群の比較の意味は刺激に対して過敏に反応している(つまりCSに対して反応する部位、USに対して反応する部位、およびこの二つを結びつける記憶に関連する部位の三つの部位が反応していると考えられる)群と、CSとUSが分離されてその間を結ぶ記憶に関連する部位がぬけ、結局CSとUSに反応する脳内の部位のみを示す群との比較ということであるので、これも前者に劣らぬ意義をもっていると考えられるものである。これらの結果はそれぞれ表に示してある通りであるが(表1)、我々はこの2つの比較のうちどちらの比

Table 1

Structures which showed increased ODR at the time of conditioned emotional response

CSE' vs CSR'	PT, SUT*, ZI*, <u>Hb</u> , <u>A24*</u> , A6, <u>A39</u> , <u>A18</u> , <u>GD</u>
CSR vs CSR'	CS, <u>Hb*</u> , <u>A24</u> , A7*, <u>A39*</u> , A40*, A41, A17, <u>A18</u> , A18a, <u>GD*</u> , AH*, (A10)

GD: gyrus dentatus, PT: area pretektalis, Hb: habenula, SUT: nucleus subthalamicus, ZI: zona incerta, CS: colliculus superior, AH: area hippocampi, Structures with asterisk indicate those which showed significant increase of ODR ($P < 0.05$). The others are structures which showed a tendency of increased ODR ($P < 0.10$). Underlined structures indicate areas and a nucleus which showed increase of ODR by comparison of both CSE' vs CSR' and CSR vs CSR'.

較においても差のある傾向以上の違いを示した部位で、しかもどちらかの比較においてODRが有意に高い値を示した核あるいは領野が最も記憶あるいは条件反応に関係の深い部位であると考えた（両方の比較でどちらにおいてもODRの有意の差を示した部位はみられなかった）。すなわちこれらの部位は、手綱核と大脳皮質の第24野、第39野、海馬歯状回であった（Fig. 1）。以下これらの部位に関して簡単な考察を加えたい。

まず手綱核であるが、これは視床上部に属し、手綱三角を占める核であって、内側核と外側核の二つの核から構成されている。この核は主として視床髓条より視床下部外側視索前野、中隔野、視床前核、淡蒼球等から線維をうけると共に、中脳の縫線核や上頸神経節から線維をうけ、視床の背内側核や中脳の背側被蓋核に線維を与え、嗅覚の連合を司るといわれてきたものである。記憶と関連のある核というのは Isseroff ら³⁾によって言われているにすぎない。しかし今回の実験においては手綱外側核において常に強い2-DGのとり込みが見られ、この核が条件反応と強いかわりを持っていることが示唆された。この核はまた前頭前野からの投射も受けているといわれ、興味ある核であると思われる。

次は第24野である。これは帯状回吻側を占める領野である。帯状回が記憶と関連するという事は Brierley ら¹⁾、Oron ら⁷⁾、Pandya ら⁸⁾、Sarter ら¹⁰⁾によって言われており、新しい発見ではない。しかし帯状回は同時に Papez⁹⁾によって提唱された有名な情動に関する回路の大切な一環をなす部位である。帯状回のどの部位がより情動に関与し、どの部位がより記憶に関連するののかについては多くの報告がないが、Whitty ら¹³⁾は帯状回前部が特に記憶と関係していると言っている。従って第24野は記憶に関連する部位であろうと思われる。また前回CSE群とCSC群との比較でODRがCSE群で高い傾向を示した第29c野について言及すると、この部位は今回の50回試行群では有意の差を示すことがなかった。従って帯状回の後部を占める第29c野は、前回にも推測した如くCSE群においてUSに対する情動関連部位としてその活動性を高めたのではないかと想像出来る。

次は第39野である。この領野は頭頂葉後下部を占める比較的狭い領野である。この領野は第40野と接しており、CSR群とCSR'群との比較においては両野ともODRがCSR群で有意に高いので、皮質領野の区分方法等からはっきり第39野と切り切れない点もある。しかしとも角大脳皮質のやや後部の外側部が実験群および過敏化群において常に2-DGの高いとり込みを示したことは事実である。従って頭頂葉後下部が常に高い活性を示したといえる。この領野はヒトにおいては言語に関与す

る大切な連合野であるが、サルにおいては発達が悪いといわれており、ラットにおいても感覚連合野と考えられるが、それ以上のことははっきりしていない。この領野は第40野をも含めて今後の検討が必要な部位であると考えられる。

次は海馬歯状回である。海馬体が記憶あるいは条件反応に関係の深い構造物であることはすでに古くから多くの人達によって指摘されており、ほぼ確立した事実であると言える。しかしこの中のどの部位が古典的な条件反応に関与しているのかについては、まだそれほどはっきりしない。今までの行動学的な破壊実験では海馬体が全体として壊されているものが多いのと、生理学的な実験では海馬体の中の一部分からの電氣的ニューロン活動しかみられていないからである。しかし歯状回が海馬と共に条件反応に関与しているという報告はなされており²⁾、¹¹⁾、前回の25試行の実験においてもこの傾向はみられた¹⁴⁾。またこの部位が記憶を保持しようとする働きを持っているという報告もなされている⁵⁾、⁶⁾。これらのことから、この部位が条件反応あるいは記憶に関与する大切な部位であるということがほぼ確かめられたのではないと思われる。

以上今回の一連の実験の一番新しい結果を披露すると共に、古典的条件反応に関与する候補部位とも言うべきものに関して簡単な考察を加えた。今後は条件づけの方法をかえて、条件反応関連部位を確認すると共に、それらの部位が記憶のどの様なプロセスに関与しているのかということについても検討をすすめたいと考えている。

文 献

- 1 Brierley, J. B., Corsellius, J. A. N., Hierons, R. and Nevin, S., Subacute encephalitis of later adult life. Mainly affecting the limbic areas, *Brain*, 83 (1960) 357-368.
- 2 Delacour, J., Two neuronal systems are involved in a classical conditioning in the rat, *Neuroscience*, 13 (1984) 705-715.
- 3 Isseroff, A., Rosvold, H. E., Galkin, T. W. and Goldman-Rakic, P. S., Spatial memory impairment following damage to the mediodorsal nucleus of the thalamus in rhesus monkeys, *Brain Research*, 232 (1982) 97-113.
- 4 Krieg, W. J. S., Connections of the cerebral cortex. I. The albino rat. A topography of the cortical areas, *J. Comp. Neurol.*, 84 (1946) 221-275.

- 5 Livesey, P. J., Bell, K. A. and Manyam, V., Disruption of passive avoidance learning in the rat by electrical stimulation of the hippocampus, *Behav. Neurosci.*, 98 (1984) 567-583.
- 6 O'Keefe, J. and Dostrovsky, J., The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely moving rat, *Brain Research*, 34 (1971) 171-175.
- 7 Orona, E. and Gabriel, M., Multiple-unit activity of the prefrontal cortex and medio-dorsal thalamic nucleus during acquisition of discriminative avoidance behavior in rabbit, *Brain Research*, 263 (1983) 295-312.
- 8 Pandya, D. N. and Yeterian, E. H., Proposed neural circuitry for spatial memory in the primate brain, *Neuropsychologia*, 22 (1984) 109-122.
- 9 Papez, J. W., A proposed mechanism of emotion, *Arch. Neurol. Psychiat.*, 38 (1937) 725-743.
- 10 Sarter, M. and Markovitsch, H. J., Involvement of the amygdala in learning and memory: a critical review, with emphasis on anatomical relations, *Behav. Neurosci.*, 99 (1985) 342-380.
- 11 Segal, M., Disterhoft, J. F. and Olds, J., Hippocampal unit activity during classical aversive and appetitive conditioning, *Science*, 175 (1972) 792-794.
- 12 Sokoloff, L., Reivich, M., Kennedy, C., De Rosiers, M. H., Patlak, C. S., Pettigrew, K. D., Sakurada, O. and Shinohara, M., The [¹⁴C] deoxyglucose method for the measurement of local glucose utilization: theory, procedure, and normal values in the conscious and anesthetized albino rat, *J. Neurochem.*, 28 (1977) 897-916.
- 13 Whitty, C. W. M. and Lewin, W., A Korsakoff syndrome in the post-cingulectomy confusional state, *Brain*, 83 (1960) 648-653.
- 14 山鳥 崇、杉岡幸三、条件反応時における脳内活動部位の解剖学的検索—心理学と解剖学の橋渡し—、異常行動研究会誌25 (1985) 投稿中。