

# 短期記憶および作業記憶の評価系の確立

石川保幸\*, 鈴木結花\*, 岩崎すみれ\*, 正田詩歩\*

## Establishment of evaluation system for short-term memory and working memory

Yasuyuki Ishikawa\*, Yuka Suzuki\*, Sumire Iwasaki\* and Shiho Syoda\*

Memory can be classified into at least short-term memory and long-term memory based on its retention time. Short-term memory usually disappears immediately, but when some event, gaze or novelty happens at the same time, it is selectively converted to long-term memory. Work memory is given as a very short memory retention, but this is used as temporary memory retention. In this research, we have established a fundamental research and evaluation system for short-term memory and work memory using spatial object recognition task and modified T-maze. These tests will be used to quantify cognitive deficits in transgenic strains of mice and evaluate novel chemical entities for their effects on cognition.

**Key words** : Spatial Object Recognition, Modified T-maze, STM, LTM

### 1 はじめに

記憶は、その保持時間にもとづき少なくとも短期記憶と長期記憶に分類することができる。また、短期記憶は通常すぐに消えてしまうが何らかのイベント・注視や新奇体験などが同時期に起きた場合、選択的に長期記憶へと変換される（新奇体験は、新たな場所・環境などを体験することをしめす）。また、きわめて短い記憶保持として作業記憶があげられるが、これは一時的な記憶保持としてつかわれる。記憶の保持時間としての概念とは異なり何か実行中の記憶を一時的に保持しておくものである。この作業記憶における注視や新奇体験による記憶の変換・増強における知見は少ない。本研究では、短期記憶および作業記憶の基礎的研究・評価システムの確立を行った。

### 2 導入

#### 2・1 記憶の分類

記憶にはその保持時間の長さによって大きく二つに分類することができる。数分から数時間といった非常に短い期間、保持される記憶が短期記憶であり、一方数時間から数日といった非常に長い期間保持される記憶が長期記憶として分類される<sup>1</sup>。また、記憶のプロセスによっても分類することができる。例えば、ある行動をなすために一時的に保持するための記憶であったり、行動をなすために過去に経験したことを照らし合わせるための

記憶がそうである。例えば知らない電話番号に電話をかける場合と、よく知っている電話番号に電話をかける場合がそうである。知らない電話番号の場合、頭の片隅に番号を一時的に保持しながら電話をかけるだろう。そして、電話をかけ終えた後、その番号はすぐさま忘れてしまう。一方、よくかける電話番号の場合は、何度か電話をかけることを繰り返すうちにすぐに思い出しながら電話をかけることが可能になる。前者は作業記憶、後者は参照記憶として分類される。これら比較的短期の記憶に関わる脳領域は海馬、前頭皮質が知られており多くの研究がなされ記憶の機構に関する知見が蓄積している。

#### 2・2 短期記憶と作業記憶の評価

従来、記憶は数秒から数分間保つことのできる短期記憶 (short-term memory; STM) と、数時間、あるいは一生保つことのできる長期記憶 (long-term memory; LTM) というように保持できる時間の差から区分される。しかし Honig によって、記憶はその情報が持つ機能的な面によって、作業記憶と参照記憶に区分できることが提唱された<sup>1,2</sup>。作業記憶と参照記憶は過去の出来事を単に記憶しているだけではなく、これから何をすべきかという行動の予測についても記憶しており、行動そのものに関与する。

これらの記憶メカニズムの解析にはヒトを用いた記憶テストや実験動物を用いた各種記憶行動課題が行われ

† 原稿受理 平成30年2月28日 Received February 28, 2018

\* システム生体工学科 (Department of System Life Engineering)

る。ヒトを用いた記憶テストでは記憶課題実施時の脳機能測定を行うことでどの脳領域が重要か検討することが可能である。一方、げっ歯類などを用いた記憶行動課題では薬理的、電気生理学的、遺伝子組換え技術をもちいた遺伝子レベルでの機能解析が可能である。

今回、マウスを用いた短期記憶および作業記憶を評価するため各種記憶行動課題の検討を行った。

### 3 材料と方法

#### 3・1 実験動物および実験環境

実験に用いた動物は前橋工科大学動物実験および遺伝子組み換え実験に対するガイドラインに則り、取り扱った。使用実験動物は C57BL6/J マウスを使用した(11～30 週齢：雄)。これらのマウスは、行動実験を行う 2 週間前から馴化およびハンドリングを 5 回ほど行った。実験環境を統一するため、照度計を用いて探索ボックス内の照度を測定および均一化(場所物体認識課題：約 100 lux, 作業記憶課題：約 60 lux)した。また、室温は 22～25℃に設定した。

#### 3・2 記憶行動課題

##### 3・2・1 場所物体認識課題

短期記憶の評価として物体場所認識課題を行った。トレーニングとして、黒色のアクリル製探索ボックス (W40×D40×H40, cm) 内に同じ色、形のプラスチック製オブジェクトを 2 つ設置し、マウスを 10 分間探索させる。探索ボックス内の 4 面には、目印としてそれぞれ異なる色、形の折り紙を底面から 10 cm の場所に貼り付けてある。インターバルでは、短期記憶課題の場合は 15 分、長期記憶課題の場合は 24 時間、マウスをホームケージに戻す。テストでは、トレーニング時に配置したオブジェクトの内どちらか一方のみ配置を変更して、5 分間探索させた(Fig. 1)。

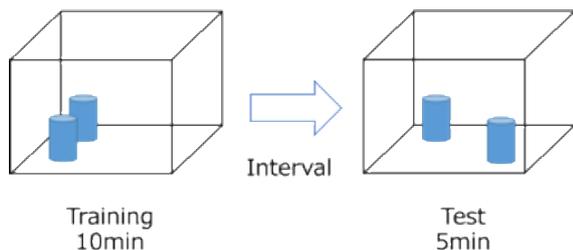


Fig. 1 Spatial Object Recognition (SOR) memory. Testing for long-term memory (LTM) and short-term memory (STM) occurred 24 h and 15 min after training, respectively.

トレーニングおよびテスト時のオブジェクトへの接触時間を Duration (D)と表す。さらに、トレーニング時の配置を変更しない側のオブジェクトに対する接触時間を DA, 配置を変更する側のオブジェクトに対する接触時間を DB と表す。また、テスト時に配置を変更しない

側のオブジェクトに対する接触時間を DY, テスト時に配置を変更した側のオブジェクトの接触時間を DX と表す。これらから 2 つのオブジェクトへの探索率を算出する。トレーニング時の探索率の算出方法を(1)に、テスト時の探索率の算出方法を(2)に示す。

- ・トレーニング時の探索率

$$\text{探索率} = 100 \cdot \text{DB} / (\text{DA} + \text{DB}) [\%] \dots\dots (1)$$

- ・テスト時の探索率

$$\text{探索率} = 100 \cdot \text{DX} / (\text{DY} + \text{DX}) [\%] \dots\dots (2)$$

探索率の変化を比較することによりマウスが移動した物体を覚えているかどうか評価する。覚えている場合、テスト時の移動した物体への探索率が増加する。

##### 3・2・2 T字型迷路課題

作業記憶の評価として T 字型迷路課題を行った。T 字迷路は Modified T-maze を採用した。この実験課題は従来の T 字迷路課題よりも作業記憶課題として精度が高いものとして報告されている<sup>3</sup>。Modified T-maze は木製で底面は灰色、壁面は黒色でペイントしたものを使用した。Modified T-maze の選択アーム中央部分に Central partition を取り付け (Fig. 2)。

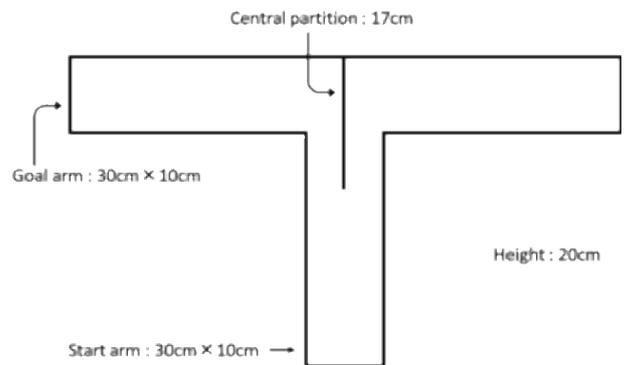


Fig.2 Modified T maze apparatus used for the alternation task.

トレーニングとしてマウスを Start arm に選択場面とは反対方向に頭を向けるようにおき、Goal arm の左右選択をさせ、選択後に仕切りを設置した。Central partition を取り外し、20 秒後にマウスを取り出した。そしてテストとしてマウスを再び Start arm に選択場面とは反対方向に頭を向けるようにおき、Goal arm を再選択させた。テスト時にトレーニングにおいて選択した方向を再選択した場合は不正解、未選択の方向を選択した場合を正解とする。この選択課題における正解率は自発的交換率として求めることで作業記憶を評価することができる。1 匹当たり 10 試行行い自発的交換率をもとめ作業記憶の評価とした。

・自発的交替率 = 交替行動の回数/試行数\*100 [%]

## 4 結果

### 4・1 場所物体認識課題による短期記憶課題評価

トレーニング時の物体探索率およびインターバル 15 分の短期記憶課題 (STM), インターバル 24 時間の長期記憶課題 (LTM) の物体探索率はそれぞれ STM (n = 21, トレーニング: 48.9 % ± 1.1, テスト: 56.7 % ± 2.5), LTM (n = 20, トレーニング: 50.7 % ± 2.0, テスト: 44.8 % ± 2.5) であった (Fig. 3). 短期記憶課題でのテスト課題では有意に物体探索率が増加した. このことから場所物体認識課題は短期記憶の評価系であることが示された.

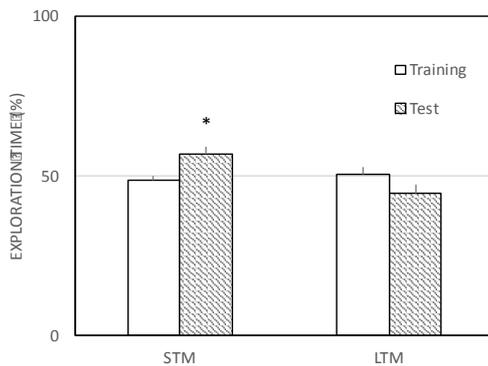


Fig. 3 Spatial object recognition.

Graph show percent exploration time of the object switched to a new location in the test session, expressed as mean ± SEM. SOR training induced STM, but not LTM. \* $p < 0.05$ , vs Training, t-test.

### 4・2 Modified T-maze による作業記憶課題評価

Modified T-maze におけるマウスの自発的交替率を Fig. 4 に示す.

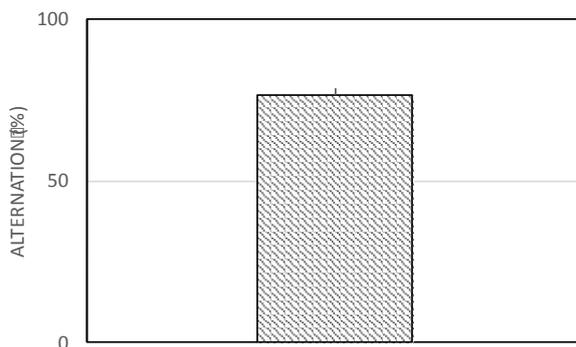


Fig. 4 The modified T-maze was used to assess spontaneous alternation and spatial working memory, expressed as mean ± SEM.

マウスの自発的交替率は 76.3 % ± 2.6 (n = 27) を示した. この結果は, 各アームをランダムに選択した場合

自発的交替率は 50 % となることから前回選択したアームを記憶していることで次の試行では別のアームを選択していることがわかる.

## 5 考察

今回, 短期記憶や作業記憶といった短い時間での記憶課題の評価系の確立ができた. これら短期記憶や作業記憶に寄与する脳領域は海馬, 前頭皮質と考えられている. 海馬は, 記憶・学習の中枢を担っていると考えられている. 今回, 確立したマウスを用いた短期記憶や作業記憶の評価系をもちいて実際に薬理的, 遺伝子工学的, 電気生理学的アプローチを組み合わせることで記憶がどのようにして形成していくのかを詳細に検討することが可能である. 実際, 当研究室では記憶に関わる分子としてニューロプシンに注目し研究を行っている. この分子は海馬, 扁桃体に強く発現し, シナプス可塑性や記憶形成に関わっていることが報告されている<sup>4,5,6</sup>. 作業記憶にもニューロプシンは関わっていることもわかっているが「いつ」どのタイミングで記憶が形成されているのは未だ不明である. 確立した実験系を用いて記憶が如何にして出来上がっていくのか, そしてニューロプシンがどのように関わっていくのか詳細に調査していきたい.

## 参考文献

- 1) RC. Atkinson and RM. Shiffrin, Human memory: A proposed system and its control processes, *The psychology of learning and motivation* **2**, 89-195(1968). doi:10.1016/S0079-7421(08)60422-3
- 2) WK. Honig, Studies of working memory in the pigeon. *Cognitive processes in animal behavior*, 211-248 (1978).
- 3) RM. Deacon and JN. Rawlins, T-maze alternation in the rodent, *Nat Protoc.* **1**(1), 7-12 (2006), doi:10.1038/nprot.2006.2
- 4) 俵(平田) 佳江, Neuropsin-NRG1-ErbB4 signaling 新規統合失調症治療ターゲット, *日本薬理学雑誌*, **143**(3), 153-155 (2014)
- 5) Y. Ishikawa, et al., Neuropsin (KLK8)-dependent and -independent synaptic tagging in the Schaffer-collateral pathway of mouse hippocampus, *J Neurosci.*, **28**(4), 843-849(2008), doi: 10.1523/JNEUROSCI.4397-07.2008.
- 6) H. Tamura, et al., Neuropsin is essential for early processes of memory acquisition and Schaffer collateral long-term potentiation in adult mouse hippocampus in vivo, *J Physiol*, **570**(3), 541-551(2006).