

令和元年6月3日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K06699

研究課題名(和文) CREB活性化パターンから明らかにする記憶の獲得・固定化・読み出し機構

研究課題名(英文) Revealing the mechanisms of memory formation, consolidation, and retrieval through CREB activity pattern

研究代表者

山崎 大介 (Yamazaki, Daisuke)

東京大学・定量生命科学研究所・助教

研究者番号：80588377

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：私たちの脳は多様な神経細胞から形成されており、様々な外部刺激に対して様々な応答する。これによって多種多様な記憶を保存できるのだが、どの細胞で記憶形成が起こっているのか、解析を困難にする一因でもある。本課題ではショウジョウバエの嗅覚記憶をモデルとし、ある程度均一に活動しうる細胞集団をラベルし、記憶における役割・性質の解析を試みた。嗅覚記憶にはキノコ体と呼ばれる脳構造が必須であることが示されており、CREB活性を指標としてキノコ体の細胞を二集団に分類してみると、両者の活性バランスによって嫌悪記憶や報酬記憶の形成効率が変化すること、さらに両者が相互抑制性を持つことを発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果として興味深いのは、CREBが神経活動のマーカーであり長期記憶に必須の因子と言われていたにもかかわらず、CREB活性の低い細胞がCREB活性の高い細胞と相補的な神経活動を行っており、報酬記憶には必須の細胞群であったということです。その結果、キノコ体の細胞が哺乳類の扁桃体と類似しており、CREB活性によってその機能ユニットが二分化されることを示します。本成果はショウジョウバエの記憶回路の基礎的な部分が種を超えて保存されていると期待され、ショウジョウバエの記憶研究の学術的意義を深めるものと考えられます。

研究成果の概要(英文)：Brains are constituted of the various types of neurons and each neuron responds to the various stimuli heterogeneously. While it enables to enlarge the capacity for memory, it makes us difficult to analyze which cells should be focused. In this project I tried to label and analyze the cell populations which showed homogeneous activities by using *Drosophila* olfactory memory as a model. I focused on CREB, an essential transcriptional factor for long-term memory, to divide the mushroom body (MB) neurons into two populations which was olfactory memory center in insects in a CRE-dependent manner. We found that the activity balance between CRE-positive and -negative MB gamma neurons could change the learning efficiency of aversive and appetitive memory, and they inhibited mutually.

研究分野：神経科学

キーワード：ショウジョウバエ 記憶 CREB キノコ体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

連合記憶が形成される細胞群は記憶が形成されるタイミングで神経活動の高い細胞が選択されることが提唱されていた。その指標の一つとして使われているのが CREB や c-fos であり、本研究は CREB に着目して記憶が形成される細胞群の解析を試みた。

2. 研究の目的

記憶が形成される細胞の動態や記憶における役割を解析することで、記憶の形成・維持・読み出しのメカニズムを細胞レベルで明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

記憶形成が起こると考えられる CREB 活性の高い細胞をラベルするため、ショウジョウバエに CREB レポーターを導入し、それらの細胞群の活性を遺伝学的に操作することによって記憶における必要性・十分性の解析を試みた。また、レポーター陽性細胞にカルシウムインジケーターを導入して記憶形成時のカルシウムレベルの変化を検出することを試みた。

4. 研究成果

CREB レポーターを split-GAL4 ベースで作製し、ショウジョウバエの嗅覚記憶中枢であるキノコ体での発現に局限したところ、図 1 のようなキノコ体の細胞に集中した発現パターンが見られた (図 1 右、CRE-p)。この細胞群で温度感受性な *Dynamin* 遺伝子である *shibire^{ts}* を発現させて、罰

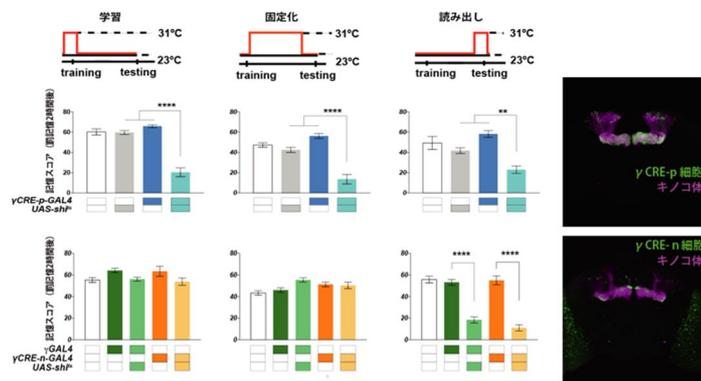


図 1 罰記憶における γ CRE-p / γ CRE-n 細胞の出力阻害の影響

記憶形成時・固定時・読み出し時の各タイミングで熱依存的に出力を阻害すると、どの場合にも記憶障害が見られた (図 1 中段)。興味深いことに、先行研究でも示されていた通り 細胞全体で *shibire^{ts}* を発現させた場合、読み出しの時にのみ記憶障害が見られた (図 1 下段)。そこでレ

ポーター陰性な細胞をラベルする新たなハエを作製し、その細胞群の発現パターンを確認すると、特徴的な投射パターンを示す 200 個ほどの細胞がラベルされた (図 1 右、CRE-n)。CRE-n 細胞で *shibire^{ts}* を発現させても細胞全体を抑制したときと同様の効果が見られた (図 1 下段)。この現象は罰記憶

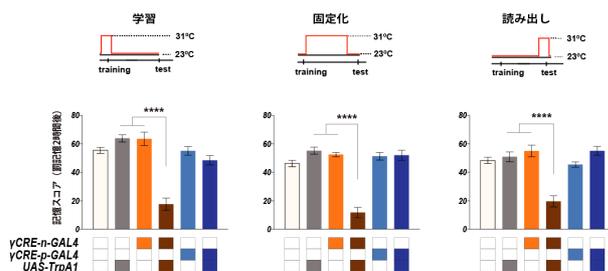
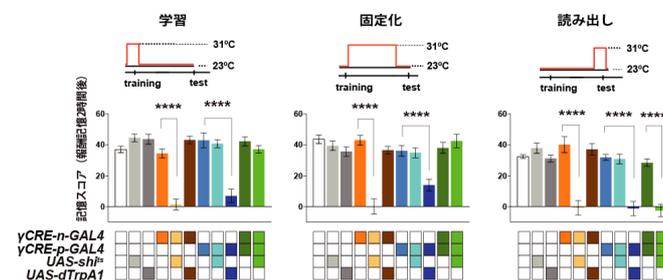


図 2 罰記憶における γ CRE-p / γ CRE-n 細胞の活性化の影響

形成・固定時に見られる CRE-p 阻害による表現型を CRE-n 細胞の阻害によりレスキューしたと見ることができる。すなわち、

CRE-n 細胞は罰記憶形成・固定に阻害的な働きを持つ可能性が



考えられた。これを検証するため 図 3 報酬記憶における γ CRE-p / γ CRE-n 細胞の活性化・不活性化の影響に CRE-n 細胞で熱依存的なカチオンチャネルである TrpA1 遺伝子を発現させ、罰記憶の各過程で CRE-n 細胞を活性化させたときの影響を見たところ、全てのケースにおいて罰記憶の障

害が見られた(図2)。この罰記憶に対して阻害的な CRE-n 細胞の存在意義を考えたところ、報酬記憶において重要な役割があるのではないかと考え、*shibire^{ts}* を発現させたときの報酬記憶への影響を調べたところ、罰記憶の場合とは反対に学習時・記憶固定時・読み出し時の全てステップにおいて CRE-n 細胞の出力が必要であることを発見した(図3)。一方で CRE-p 細胞の抑制は報酬記憶には全く影響が無く、CRE-p 細胞の活性化は報酬記憶のどのステップにおいても記憶障害を引き起こすことを見出した(図3)。つまり、CRE-p 細胞は罰記憶に必須で報酬記憶を阻害し、CRE-n 細胞は報酬記憶に必須で罰記憶を阻害する働きがあることがわかった。このことが示す CRE-p 細胞と CRE-n 細胞の役割とは何かと考えたところ、両者は匂いに対する価値のコントロールに利用されているのではないかとこの着想にいたった。これを確かめるため、CRE-p あるいは CRE-n 細胞を活性化/不活性化しながら匂いをかがせたとき、その匂いに対する嗜好性を測定した。その結果、CRE-p 細胞を阻害すると、そのときに嗅いだ匂いに寄って行き、活性化するとその匂いを避けることがわかった。反対に、CRE-n 細胞を阻害すると、嗅いだ匂いを嫌いになり、活性化するとその匂いを好きになることがわかった。つまり CRE-p/CRE-n 細胞の活性バランスが嗅覚記憶のベースとなる匂いの価値を決めているということを明らかにした。

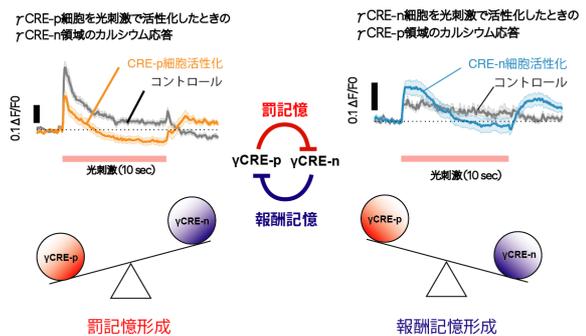


図4 γ CRE-p/ γ CRE-n 細胞の活性バランスが罰記憶・報酬記憶の形成に必要な価値情報を決める

この性質を細胞レベルで観察するため、オプトジェネティクスと in vivo カルシウムイメージングを用いた実験を行った。CRE-p 細胞で *csChrimson* を発現させて光依存的に活性化すると、CRE-n 領域のカルシウムレベルが抑制され(図4左上)、逆に CRE-n 細胞を活性化させると CRE-p 領域が抑制されることを見出した(図4右上)。これらの結果からキノコ体細胞は CREB 活性によって機能的に分けることができ、CRE-p/ CRE-n 両細胞群の活性バランスは価値情報のコードに重要であることが示唆された。また、哺乳類において情動を司るとされる扁桃体についても私のキノコ体細胞モデルと類似したものが提唱されており、価値情報のコーディング回路が種間で保存されている可能性も出てきた。遺伝学のモデル動物として重宝されてきたショウジョウバエが、その記憶回路の基本的な部分においても私たち哺乳類に還元できるのではないかと期待される。

5. 主な発表論文等 〔雑誌論文〕(計2件)

1. [Yamazaki D](#), Hiroi M, Abe T, Shimizu K, Minami-Ohtsubo M, Maeyama Y, Horiuchi J, and Tabata T.

Two parallel pathways assign opposing odor valences during *Drosophila* memory formation.

Cell Rep. 2018 Feb 27;22(9):2346-2358. 査読有り

2. Nitta Y, [Yamazaki D](#), Sugie A, Hiroi M, Tabata T.

DISCO Interacting Protein 2 regulates axonal bifurcation and guidance of *Drosophila* mushroom body neurons.

Dev Biol, 2017 Jan 15;421(2):233-244. 査読有り

[学会発表](計 11 件)

1. Yamazaki D, Hiroi M, Abe T, Shimizu K, Maeyama Y, Ohtsubo-Minami M, Horiuchi J, and Tabata T.

Two parallel pathways assign opposing odor valences during Drosophila memory formation

新学術領域「多様性から明らかにする記憶ダイナミズムの共通原理」 班会議、富山、2018 年 3 月

2. 山崎大介

ショウジョウバエ嗅覚連合記憶における価値情報の維持機構

Maintenance of the valences in Drosophila olfactory memory

第 40 回日本分子生物学会年会ワークショップ、神戸ポートアイランド、2017 年12 月

3. 山崎大介

Olfactory valence in Drosophila

第 10 回分子高次機能研究会、天童、2017 年 9 月

4. Yamazaki D, Hiroi M, Abe T, Maeyama Y, Ohtsubo-Minami M, and Tabata T. Two

parallel pathways assigning opposite odor valences in Drosophila olfactory memory.

Janelia Conference “Structure and Function of the Insect Mushroom Body”、

Janelia Reseach Campus、2017 年 3 月

5. 山崎大介

正負の連合学習を規定する双方向性脱抑制機構

Bidirectional switch of disihhibition for differentiating positive and negative associations

第 39 回日本神経学会大会シンポジウム、パシフィコ横浜、2016 年 7 月

6. Yamazaki D, Hiroi M, Abe T, Maeyama Y, Ohtsubo-Minami M, and Tabata T.

A bidirectional neuronal switch assigning the odor valences

新学術領域「多様性から明らかにする記憶ダイナミズムの共通原理」 班会議、静岡、2016 年6 月

7. 山崎大介

「報酬記憶と罰記憶を切り替える双方向性の脱抑制スイッチ回路」

包括脳ネットワーク冬のシンポジウム、一橋講堂学術センター、2015 年12 月

8. Yamazaki D, Hiroi M, Ohtsubo-Minami M, and Tabata T.

Bidirectional switch for regulating the valence to the odor in Drosophila

第38 回日本分子生物学会年会、神戸ポートアイランド、2015 年12 月

9. Yamazaki D, Hiroi M, Ohtsubo-Minami M, and Tabata T.

Bidirectional switch determining positive and negative associations in *Drosophila* olfactory memory

新学術領域「多様性から明らかにする記憶ダイナミズムの共通原理」

班会議、京都、2015年11月

10. 山崎大介

報酬記憶と罰記憶を切り替える双方向性脱抑制スイッチ

第8回分子高次機能研究会、金沢、2015年8月

11. Yamazaki D, Hiroi M, Ohtsubo-Minami M, and Tabata T.

CREB activity-dependent genetic dissection of the *Drosophila* mushroom body highlights the novel functions of neurons in olfactory memory

第38回日本神経学会大会、神戸ポートアイランド、2015年7月

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<https://researchmap.jp/dyamazak/>

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：なし

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。