

平成 22 年 6 月 8 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20700285
 研究課題名（和文）PQB1 遺伝子変異による新規精神遅滞モデルショウジョウバエの解析

研究課題名（英文）Analysis of Drosophila dPQB1 mutant

研究代表者

田村 拓也（TAMURA TAKUYA）
 東京医科歯科大学・難治疾患研究所・助教
 研究者番号：80396647

研究成果の概要（和文）：我々はショウジョウバエの dPQB1 変異体における学習獲得異常の原因解明のために実験を行った。dPQB1 変異体では、キノコ体（従来記憶の中核と考えられていた）には異常がなく、キノコ体に情報を伝達するための投射ニューロンに異常があった。この異常は発生または形体に起因するものではなく、機能的な異常であると考えられた。その機能的な以上にグルタミン酸受容体の一種である NMDA 受容体の投射ニューロンでの発現低下が関わっていることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：We analyzed the dPQB1 mutant to elucidate the cause of the inhibited learning acquisition of the dPQB1 mutant. The dPQB1 mutant has a defect in projection neurons but not in mushroom bodies (which is a target of projection neuron and which is considered to be center of memory). The defect was considered to be functional but not morphological (and/or developmental). It was suggested that the defect is depends on reduced expression of NMDA receptor in projection neurons.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：行動生理学、神経科学

科研費の分科・細目：神経科学一般

キーワード：ショウジョウバエ、記憶、学習、精神遅滞、モデル動物、PQB1、projection neuron

1. 研究開始当初の背景

ショウジョウバエにおいてはキノコ体が記憶の中核であることやその分子メカニズムに cAMP の経路が必須であることが明らかになっている(Keene & Waddle 2007 Nat Rev Neurosci)。一方、近年ではキノコ体の

上位ニューロンである匂いの二次ニューロン、投射ニューロン(PNs)に匂い刺激と電気ショックにより可塑性が起きることが示されており、PNs で匂い嫌悪学習が起こり非常に短時間保持されることが示唆されている(Yu et al., 2004 Neuron)。しかし、匂い嫌悪

学習において重要な遺伝子、rutabaga (adenylyl cyclase)の発現はPNsでは必要なく、キノコ体での発現で十分であることが報告されている(Zars et al., 2000 Science)。このことより、PNsでの記憶にはcAMP以外の経路が働いていることが予測される。また、PNsにおける匂い嫌悪学習に異常のある変異体は未だに存在せず、そのためPNs記憶の分子機序は明らかではない。

2. 研究の目的

我々の新しい学習変異体、dPQBP1変異体はPNsでの記憶が阻害された最初の変異体であることが示唆されており、この八工を解析しPNsの記憶の正体を明らかにする。

3. 研究の方法

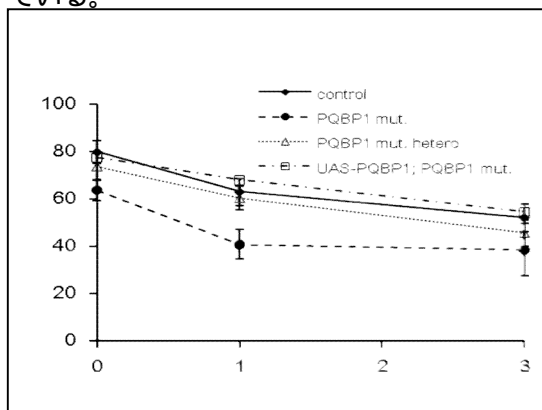
(1)PNsは匂いの二次ニューロンであるが、dPQBP1変異体では匂いの感受性は低下していない。このことはdPQBP1変異体でもPNsが正常に発達している事を示唆している。そこで、Gal4-UAS systemを用いPNs特異的にGFPを発現させ、直接PNsの細胞数や投射パターンを観察し、これを検証する。

(2)上記の実験とともに、Gal80^{ts}を用いた時期特異的レスキュー実験を行う。これにより、PQBP1変異体での学習障害が発生異常に起因する部分があるのか、あるとすればどの程度の割合なのかを検討する。

(3)PQBP1は遺伝子発現を調節する機能があると考えられており、実際PNsで発現変化しているいくつかの遺伝子を見つけている。そこで、その遺伝子の発現を回復すればPQBP1変異体の学習障害を回復できるか検証する。

4. 研究成果

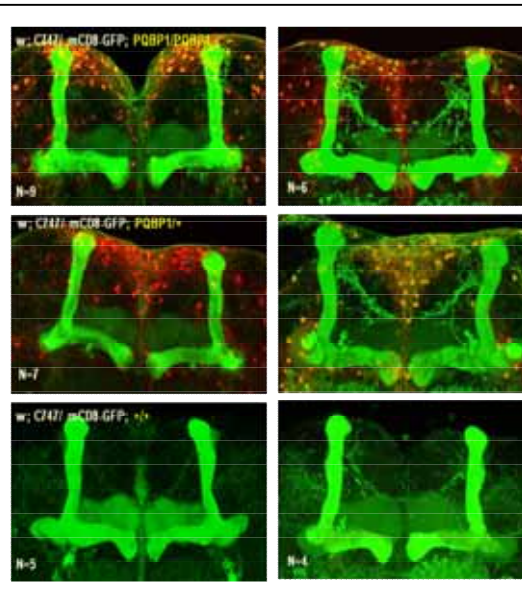
(1)dPQBP1変異体では学習獲得能が低下している。



縦軸が記憶スコア(Performance Index)、横軸がトレーニング後の時間(hr)。野生型と変異体では学習直後にすでにスコアに差があり、その後は平行になっている。この事は記憶の保持は正常だが、学習の獲得

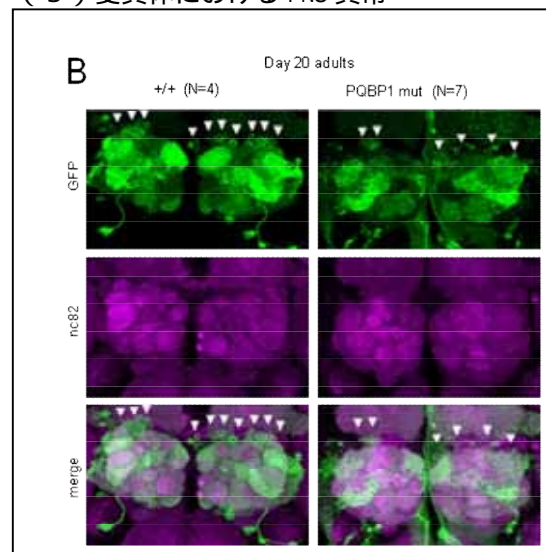
に異常があることを示唆している。

(2)キノコ体の形態は正常である。



上から、変異体ホモ、変異体ヘテロ、野生型。左は3日齢、右は20日齢の八工のキノコ体。野生型と変異体の間ではキノコ体の形態に違いは見られなかった。

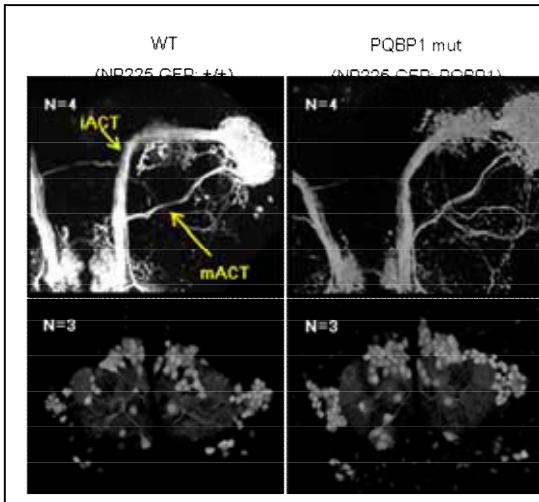
(3)変異体におけるPNs異常



変異体においてはPNsにおけるGFPの発現誘導が弱い。

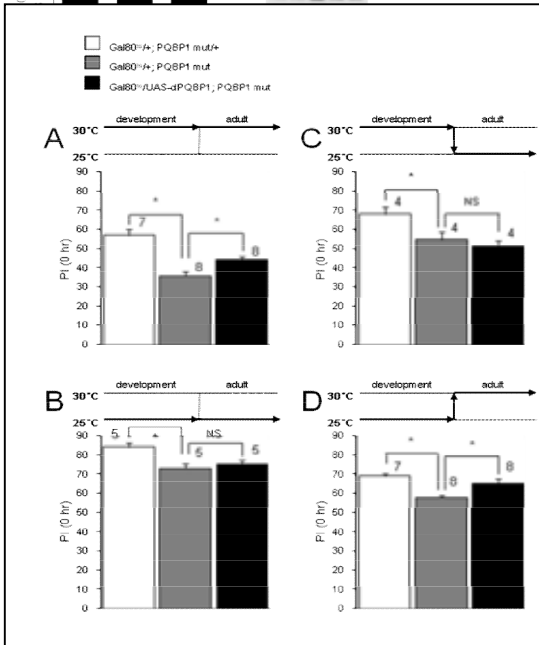
この表現型においては、PNsの形態異常の可能性を排除出来ないのので次の実験によりさらに詳細に解析を行った。

(4) 変異体の PNs における異常は形態異常ではない。



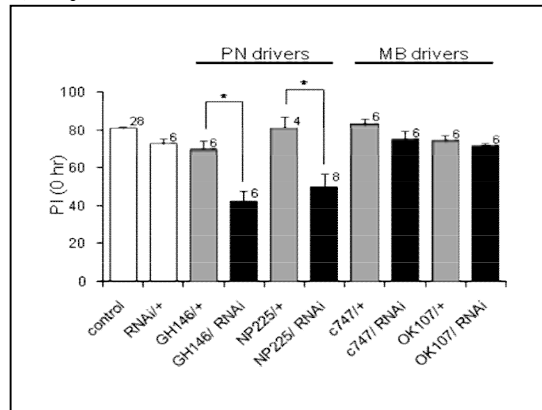
変異体における PNs のアクソン投射パターン及び、細胞数は野生型と差がなかった。

(5) dPQBP1 は発生時期ではなく成虫になっ



温度依存性 Gal80^{ts} を用いた時期特異的レスキュー実験により dPQBP1 遺伝子を変異体に発生時期特異的及び成虫特異的に発現させるレスキュー実験を行った。その結果、発生時期特異的なレスキューでは学習機能は回復せず、成虫特異的なレスキューでは学習機能が回復することが明らかとなった。

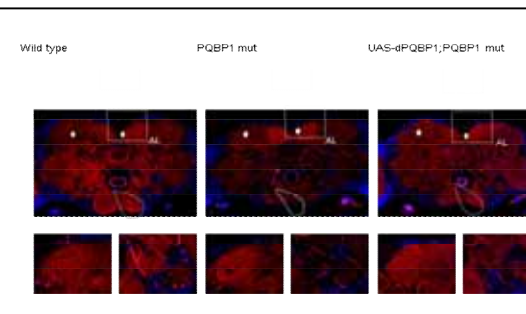
(6) dPQBP1 はキノコ体ではなく PNs で機能する。



dPQBP1 が脳のどの領域で機能するか調べるために、部位特異的な RNAi による Knock Down 実験を行った。PNs で dPQBP1 を KD した場合には学習機能が低下したが、キノコ体(MB)で KD した場合には学習機能の低下が見られなかった。

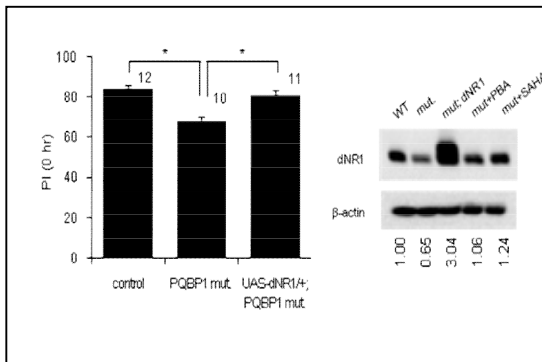
ここまでの結果を総合し、dPQBP1 の変異は PNs に特異的な機能変化を起こすことにより、学習獲得機能を低下させると考えられる。では、どのような機能変化が考えられるのだろうか？さらなる実験でこの機能変化に関わると思われる分子、NMDAR1 を特定した。

(7) 変異体では PNs 特異的に NMDAR1 の発現が低下している。



dPQBP1 には転写調節機能があると考えられているため、PNs での学習遺伝子の発現調節をしている可能性が考えられた。免疫染色の結果、dPQBP1 変異体では PNs を含む脳の一部領域で発現量が低下している事が明らかとなった。

(8) NMDAR1 過剰発現による dPQBP1 変異体の学習以上の回復



dPQBP1 変異体における学習異常は NMDAR1 過剰発現でレスキューされた。野生型ショウジョウバエに NMDAR1 を過剰発現させても学習機能は向上しなかった(data not shown)。

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3件)

1, Enokido Y*, Tamura T*, Ito H*, Arumughan A, Komuro A, Shiwaku H, Sone M, Foulle R, Sawada H, Ishiguro H, Ono T, Murata M, Kanazawa I, Tomilin N, Tagawa K, Wanker EE, Okazawa H.

*These authors equally contribute
Mutant huntingtin impairs Ku70-mediated DNA repair.

J Cell Biol. 2010 May 3;189(3):425-43.

2, Sone M, Uchida A, Komatsu A, Suzuki E, Ibuki I, Asada M, Shiwaku H, Tamura T, Hoshino M, Okazawa H, Nabeshima Y.

Loss of yata, a novel gene regulating the subcellular localization of APPL, induces deterioration of neural tissues and lifespan shortening.

PLoS One. 2009 Feb;4(2) e4466. 査読あり

3, Tamura T, Sone M, Yamashita M, Wanker EE, and Okazawa H

Glial cell lineage expression of mutant ataxin-1 and huntingtin induces developmental and late-onset neuronal pathologies in Drosophila models.

PLoS One. 2009 Jan;4(1), e4262. 査読あり

[学会発表](計6件)

田村拓也 「ショウジョウバエ PQBP1 と

projection neuron と学習障害」 第2回分子高次機能研究会、福島(いわき)、2009.11.3-5 (発表は11/3)

田村拓也、新規精神遅滞モデルショウジョウバエ、PQBP1 変異体の行動遺伝学的解析 CBIR 若手シンポジウム、東京、2009.2.1

田村拓也 「転写抑制による緩慢な非典型的細胞死 (TRIAD) の分子経路の解明; ショウジョウバエモデルの作成と解析」 細胞死病コロキウム、京都、2008.10.21

田村拓也 「ショウジョウバエ PQBP1 は projection neuron に保持される超短期記憶に必須である」 第1回分子高次機能研究会、山梨、2008.10.2-4 (発表は10/3)

田村拓也、堀内大輔、曾根雅紀、Yi-Chung Chen, Ann-Shyn Chiang, 岡澤均

Ultra-short memory stored in projection neurons requires a novel memory gene, drosophila PQBP1.

ショウジョウバエ PQBP1 はプロジェクションニューロンに保持される超短期記憶に必須である

第31回日本神経学会大会、東京、2008.7.9

田村拓也、堀内大輔、曾根雅紀、岡澤均

PQBP-1 遺伝子変異による精神遅滞の新たなモデルショウジョウバエ

第49回日本神経学会総会、横浜、2008.5.17

[図書](計件)

[産業財産権]

出願状況(計件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6．研究組織

(1)研究代表者

田村 拓也 (TAMURA TAKUYA)
東京医科歯科大学・難治疾患研究所・助教
研究者番号：80396647

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし