

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：82609

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06388

研究課題名(和文)ドーパミンとコトランスミッターから探る学習・忘却メカニズムの解析

研究課題名(英文)Analysis of learning and forgetting mechanisms based on Dopamine and Co-transmitters

研究代表者

山崎 大介 (YAMAZAKI, Daisuke)

公益財団法人東京都医学総合研究所・脳・神経科学研究分野・研究員

研究者番号：80588377

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ショウジョウバエの嗅覚記憶形成に必須なドーパミンニューロンとして、嫌悪記憶形成に必須なPPL1ニューロンと報酬記憶形成に必須なPAMニューロンが同定されているが、嫌悪記憶形成後にPPL1を活性化させると、嫌悪記憶が不安定化されることが報告されていた。本研究課題においては、この事象がドーパミンニューロンから放出されるドーパミンによって、嗅覚記憶形成が起こる一方、セカンドトランスミッターによって記憶の安定化がコントロールされること、さらにそれらのシグナルがキノコ体細胞種によって選択的に処理されていることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ドーパミンニューロンが複数のトランスミッターを放出する現象は種を超えて報告されてきているが、それらの生理学的な意義については研究が進んでいなかった。本研究では、ドーパミンおよびドーパミンニューロンの活性が記憶形成に必須である一方、記憶形成後には記憶の不安定化する現象に着目し、セカンドトランスミッターが記憶の安定化制御に寄与することを明らかにした。また、各セカンドトランスミッターのシグナルはそれらの受容体を持つ細胞群で選択的に処理されることから、記憶種ごとに安定化の制御が独立している可能性についても示した点において、意義深い。

研究成果の概要(英文)：Dopamine neurons can be classified into PPL1 and PAM neurons, which are necessary for aversive and appetitive learning in *Drosophila* olfactory memory formation, respectively. However, it has been reported that PPL1 activation after aversive learning disrupts aversive memory. To identify the responsible signaling for memory stability in *Drosophila* mushroom bodies which receive dopaminergic inputs, we searched for receptor genes required for forgetting in aversive and appetitive memory. We found mGluRA and GABA-A receptor (Rdl) as destabilizers for aversive and appetitive memory, respectively. In previous work, we have identified gamma neuron subtypes (CRE-p and CRE-n) in the mushroom body necessary for aversive and appetitive memory, respectively. Interestingly mGluRA functioned only in CRE-p neurons and Rdl did in CRE-n neurons. Finally we also found that glutamate and GABA signaling could be selectively processed in distinct gamma neuron subtypes under control of forgetting.

研究分野：神経生物学

キーワード：ドーパミン グルタミン酸 GABA 忘却

1. 研究開始当初の背景

ショウジョウバエの嗅覚記憶において、ドーパミンニューロン (DAN) の活動はニュートラルな刺激である匂いに対して正負の価値情報を付与することで記憶を形成する。正負の情報を伝達する DAN は

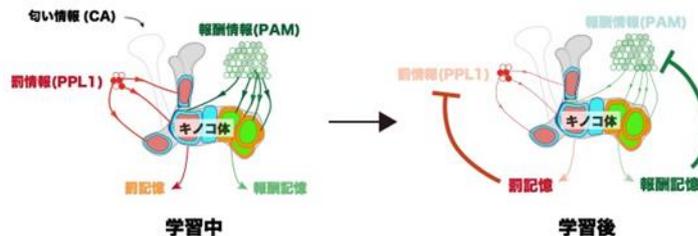


図1 学習後のドーパミンニューロンの活性が記憶維持・忘却をコントロールする

それぞれ別のクラスター (PAM/PPL1) として同定されており、嗅覚記憶中枢であるキノコ体に入力する (図1)。負の情報を伝達する PPL1-DAN の活性は罰学習に必須であるが、罰記憶形成後に強制的に活性化すると、記憶の不安定化を引き起こすことが報告されている。このメカニズムとして提唱されているのが、学習時と記憶の安定化ステップで異なるドーパミン受容体を使い分けるというモデルだが、十分なコンセンサスは得られていない。哺乳類の研究においても脳部位・記憶タスクによっては同様の現象が報告されており、種を超えた課題として認識できる。この問題を解決するための新たな試みとして、ハエの DAN から放出されるコトランスミッターに着目し、一酸化窒素 (NO) がその候補として同定された。ハエに匂い物質を与えると同時に PPL1 ニューロンを活性化すると、野生型のハエでは罰記憶が形成される一方、ドーパミン変異体では報酬記憶が形成された。これは NO がドーパミンと逆の作用を持つことを示すが、NO 合成酵素を阻害しても罰記憶には大きく影響しないことや、NO の放出は拡散に依存するため時間的に厳密な神経制御を要する既存のモデルとの矛盾も存在する。

一方で私は独自の研究として、キノコ体の γ 細胞を CREB 活性の観点から罰記憶に必須な γ CRE-p 細胞と、報酬記憶に必須な γ CRE-n 細胞に分類できることを見出した。さらに罰記憶形成後に γ CRE-p の出力を阻害あるいは γ CRE-p で D1 受容体 (DopR1) をノックダウンすると記憶が不安定化されることも見出している (図2上)。反対に報酬記憶の場合は γ CRE-n の出力や D1 様受容体 (DopR2) が記憶の安定化に寄与する (図2下)。つまり記憶タスクによって必要なキノコ体細胞とそこで発現するドーパミン受容体が異なり、それぞれの記憶維持のためにはドーパミンシグナルは必要であるが、強すぎるドーパミンニューロンの活性は記憶を不安定化してしまうことがわかってきた。このように、記憶形成と記憶の安定化におけるドーパミンニューロンの二面性は、忘却メカニズムの一つの課題となっていた。

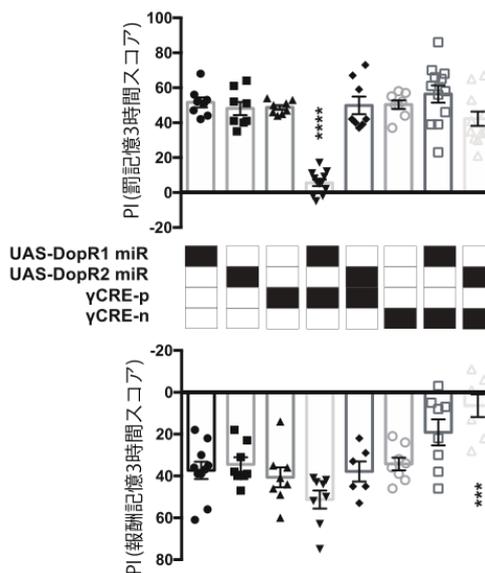


図2 罰記憶の安定化には γ CRE-p 細胞の DopR1 が必要であり、報酬記憶の安定化には γ CRE-n 細胞の DopR2 が必要である。

2. 研究の目的

そこで本研究ではこのメカニズムの解明を第一の課題とし、ドーパミンニューロンから小胞性コトランスミッターが放出されるかどうか、それらが記憶形成後にドーパミンと反対の作用を持つか否かを検証し、小胞性コトランスミッターを加えた記憶の安定化モデルの構築を第一の目的とした。

3. 研究の方法

最近のゲノム編集とトランスクリプトーム解析によれば、罰情報を伝達する PPL1 ドーパミンニューロンは NO 合成酵素の他にも小胞性トランスミッターである小胞グルタミン酸トランスポーターを発現し、報酬系の PAM ニューロンでは GABA トランスポーターの発現が示されている。そこで、PPL1/PAM1 ニューロンで各トランスミッターの放出を RNAi で抑制したとき、罰記憶・報酬記憶にどのような影響を与えるかを行動実験で検証する。さらに、各トランスミッターの受容体はキノコ体で発現することが考えられるため、キノコ体でこれらの受容体の発現を抑制した場合の影響についても、同様に検証し、各トランスミッターのシグナル伝達経路を回路レベルで解析する。

4. 研究成果

羽化後の PAM ニューロンにおいて GABA 合成酵素である GAD を RNAi で発現抑制した場合、報酬記憶（3 時間記憶）が亢進することを見出した（図 3 左図）。また、PPL1 においてグルタミン酸トランスポーター-vGluT を発現抑制した場合は、罰記憶（3 時間記憶）が亢進することが観察さ

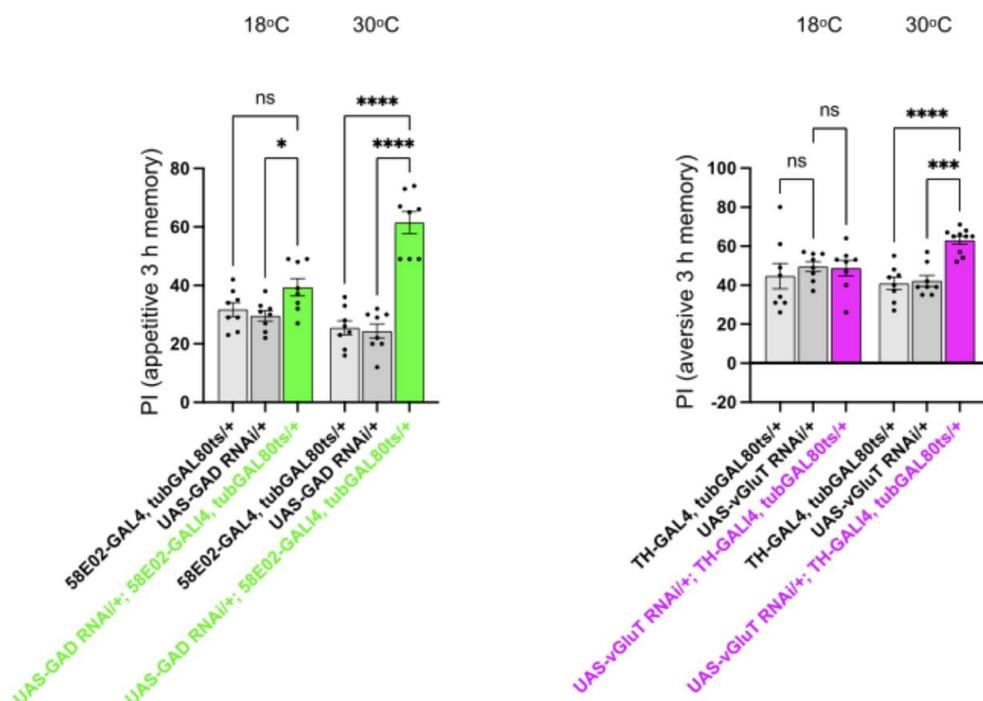


図 3 PAM ニューロンからの放出される GABA、PPL1 ニューロンから放出されるグルタミン酸はそれぞれ報酬記憶・罰記憶の安定化を阻害

れた（図 3 右図）。これらの結果から、PAM ニューロン・PPL1 ニューロンからそれぞれ放出される GABA、グルタミン酸は、報酬記憶・罰記憶を不安定化させることが示唆された。

これらのトランスミッターの入力先の重要な候補として、キノコ体が挙げられる。私たちはこれまでの研究において、キノコ体 γ 細胞が罰記憶に必須な γ CRE-p 細胞と報酬記憶に必須な

γ CRE-n 細胞に分けられることを発見しているため、両トランスミッターはキノコ体 γ CRE-p/ γ CRE-n 細胞に選択的に受容されるのではないかと考えた。GABA は抑制性シグナルを伝達するトランスミッターであるものの、グルタミン酸受容体の多くは興奮性シグナルを伝達する。セカンドトランスミッターとしてのグルタミン酸シグナルは、GABA と同様に抑制性であることが想定されるため、抑制性グルタミン酸受容体として報告されている mGluRA をキノコ体における受容体候補として検証した。 γ CRE-n 細胞において mGluRA を抑制しても罰記憶（3 時間記憶）に影響は見られなかったが、 γ CRE-p 細胞で mGluRA の発現を抑制したところ、罰記憶（3 時間記憶）の亢進が見られたことから（図 4）、 γ CRE-p 細胞における mGluR シグナルが罰記憶の安定化に寄与していることが示された。一方で、mGluRA の抑制は報酬記憶には影響が見られなかった。 γ CRE-n 細胞で GABA-A 受容体を抑制した場合、報酬記憶（3 時間記憶）が亢進されるが、罰記憶（3 時間記憶）は阻害された。また、 γ CRE-p 細胞において GABA-A 受容体を抑制した場合も報酬記憶の低下が見られた。これは、 γ CRE-n 細胞の活性化が罰記憶を阻害し、 γ CRE-p 細胞の活性

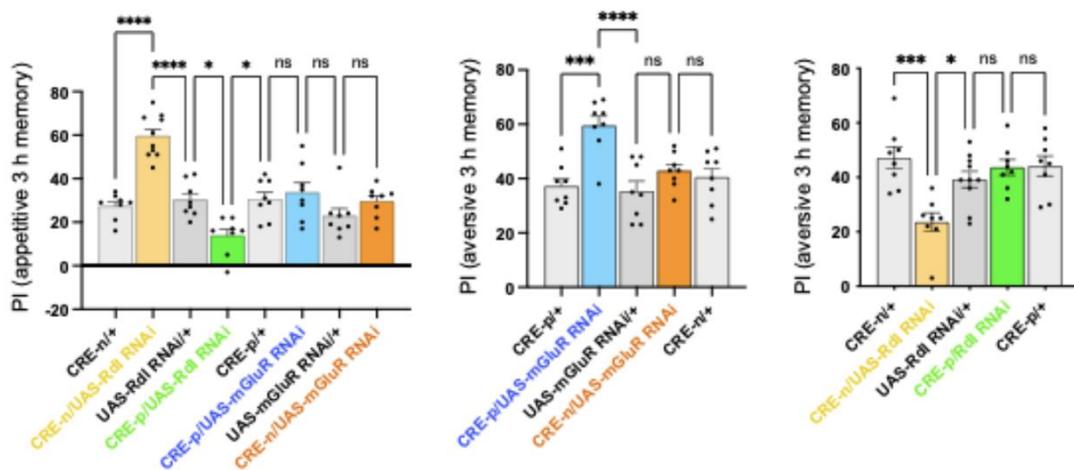


図 4 キノコ体 γ 細胞におけるコトランスミッター受容体シグナルは記憶の安定化を制御する

化が報酬記憶を阻害するという以前の報告とも一致する。

本研究成果により、ドーパミンニューロンから放出されるドーパミンは記憶形成に重要である一方、セカンドトランスミッターが記憶の不安定化に寄与することが示された。追加の実験でわかったこととして、mGluR シグナリングの阻害によって安定化される罰記憶は、3 時間記憶のみならず、長期記憶にまで安定化されることがわかった。この経路の存在意義としては、外部刺激に対するキノコ体の応答や記憶の安定化コストのリミッターとして機能していると考えられ、その詳細なメカニズムとして cAMP やカルシウムイメージングで検証を続けている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yamazaki Daisuke, Maeyama Yuko, Tabata Tetsuya	4. 巻 43
2. 論文標題 Combinatory Actions of Co-transmitters in Dopaminergic Systems Modulate Drosophila Olfactory Memories.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 8294 ~ 8305
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1523/jneurosci.2152-22.2023	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 山崎大介、前山有子、多羽田哲也
2. 発表標題 ショウジョウバエのドーパミンニューロン由来のセカンドトランスミッターは嗅覚記憶の安定化を制御する
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山崎大介
2. 発表標題 Dynamics of cAMP during olfactory memory formation in Drosophila
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会（国際学会）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<https://researchmap.jp/dyamazak>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------