

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2017

課題番号：26830003

研究課題名(和文) 記憶固定と忘却のバランスを制御するメカニズムの解明

研究課題名(英文) Analysis of mechanisms regulating memory consolidation and forgetting

研究代表者

殿城 亜矢子 (Tonoki, Ayako)

千葉大学・大学院薬学研究院・講師

研究者番号：90645425

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：老化に伴い記憶形成能が低下するが、その感受性は記憶の種類によって異なる。本研究では、この様な老化への感受性の差が生じる機構を神経回路レベルで明らかにすることを旨とし、ショウジョウバエを用いた遺伝学的・行動解析を行った。その結果、神経ペプチド発現神経細胞やドーパミン神経細胞の投射パターンや機能の長期的な変化が老化への感受性の差を生じさせることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The formation of memory declines with advancing age. However, susceptibility to memory impairments depends on the robustness of memory. In this study, we aimed to reveal how age-dependent changes in neural circuits affect memory formation by using *Drosophila* genetics and behavior analysis. We succeeded to show that memory declines are caused by age-dependent changes in neural circuits including a subset of dopaminergic neurons and neuropeptides expressing neurons.

研究分野：神経科学

キーワード：老化 記憶 忘却 ショウジョウバエ ドーパミン ニューロペプチド

1. 研究開始当初の背景

学習直後の記憶は不安定であるが、固定化のプロセスを経て安定な記憶となるか、あるいは忘却のプロセスを経て消失する。記憶の固定と忘却がバランスをとることで一定の記憶が保たれているが、このバランスは学習の強弱やその種類に依存する。また、このバランスの異常(破綻)が加齢にともなう記憶低下の原因の一つであると考えられる。申請者はこれまでに、ショウジョウバエ嗅覚記憶をモデルとして研究を行い、無条件刺激である電気刺激と条件刺激である匂いを連合学習させる罰記憶において、記憶の固定化を必要とする中期記憶が老化に伴い顕著に低下することを明らかにしてきた(Tonoki A. and Davis RL., 2012)。

ハエ嗅覚記憶の形成に関する研究は、記憶形成変異体の解析によって著しく進展し、ハエもヒトを含めた哺乳類ときわめてよく似た学習記憶のメカニズムを持つことが明らかとなってきた。さらに神経細胞を同定する技術開発を通して、ハエ嗅覚系に参与する様々な神経細胞の同定が進展してきた。一方で、ハエ嗅覚記憶は無条件刺激である電気刺激と条件刺激である匂いを連合学習させる罰記憶、無条件刺激である砂糖と匂いを連合学習させる報酬記憶が確立されている。この2種類の記憶は学習後の記憶形成やその維持度が異なる。罰記憶は単回学習の後、24時間程度で忘却するなど不安定であるのに対して、報酬記憶は単回学習の後、24時間以上安定した記憶が保持される。このような安定した報酬記憶の形成には、個体が十分に飢餓状態であることや栄養価の高い砂糖と連合学習することが必要である。さらに、哺乳類神経ペプチドYのオースログであるショウジョウバエ神経ペプチドF(dNPF)発現ニューロンの活性化も報酬記憶の形成に必要であることが知られている。しかし、このように生体内の代謝状態に依存する報酬記憶の形成が加齢により受ける影響については不明な点が多かった。

2. 研究の目的

本研究では、報酬記憶の形成の加齢性変化に着目し、まだ解明されていない記憶固定と忘却のバランスを制御するメカニズムを明らかにすることで、加齢にともなう記憶低下の原因を探る。

(1) 報酬記憶形成の加齢による影響

これまでに明らかにされていない報酬記憶形成に対する加齢の影響について、個体の生体内代謝状態に着目して明らかにする。

(2) 報酬記憶形成の加齢による影響を制御する神経系

報酬記憶形成に参与する様々な神経系が既に同定されているが、その中でもニューロペプチド神経細胞やドーパミン作動性神経細胞に着目し、それらの加齢に伴う形態や機能の変化を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 報酬記憶形成の加齢による影響

ハエの嗅覚学習において、報酬記憶は学習後の忘却スピードが罰記憶に比較して緩やかであることが知られている。報酬記憶の形成には個体が飢餓状態である必要がある。報酬記憶形成に対する加齢の影響を検討するために、まず飢餓状態に対する感受性を若齢個体と老齢個体で比較した。それぞれ同等の飢餓状態にした上で、匂いと砂糖との連合学習を行い、報酬記憶の形成と維持を時間経過ごとに検討した。さらに、連合学習に用いる砂糖に含まれる栄養価によって、形成される記憶の強弱が異なることが知られているため、それらがどのように加齢によって変化するのかも併せて検討を進めた。

(2) 報酬記憶形成の加齢による影響を制御する神経系

ニューロペプチドF発現神経細胞は、食物の摂取や報酬記憶を制御することが知られている。ニューロペプチドF発現神経細胞特異的に、シナプス伝達を遮断するshibire温度感受性変異体やシナプス伝達を亢進する温度感受性カチオンチャネルTrpA1を発現させたハエ系統を用意した。一過的にニューロペプチドF発現神経細胞のシナプス伝達を遮断もしくは亢進させた個体において、砂糖の摂取や報酬記憶の形成を評価した。さらに、ニューロペプチドF関連因子について加齢による発現量変化を検討すると同時に、ニューロペプチドF発現神経細胞に蛍光タンパク質を発現させた個体を日齢依存的に観察することで、投射パターンの変化を定量した。また、同様の手法をドーパミン作動性神経細胞にも適用した。

4. 研究成果

(1) 報酬記憶形成の加齢による影響

①栄養価の高い砂糖であるスクロースを条件付けに用いた場合は、若齢個体と同様に老齢個体でも安定した強固な報酬記憶が形成されること、②栄養価の低い砂糖であるアラビノースを条件付けに用いた場合は、報酬記憶形成が若齢個体に比較して老齢個体で著しく低下することを明らかにした。さらに、老齢個体におけるアラビノースによる報酬記憶形成の低下は、栄養を含むハエにとって甘さを感じないソルビトールの添加により、部分的に回復することを見出した。このことより、栄養価の高い砂糖と条件付けされた記憶は老齢個体でも維持されるのに対して、栄養価の低い砂糖と条件付けされた記憶は老化に伴い低下することが明らかとなった。

(2) 報酬記憶形成の加齢による影響を制御する神経系

①ニューロペプチドF

哺乳類ニューロペプチドYのオースログであるショウジョウバエニューロペプチドF

(dNPF) 発現ニューロンの活性化は報酬記憶の形成に必要であることが知られている。まず、*dNPF* の発現量の加齢に伴う変化を検討したところ、*dNPF* の発現量は加齢に伴い顕著に増加していることが明らかとなった。さらに *dNPF* 発現ニューロンの軸索投射パターンを若齢個体と老齢個体で比較したところ、軸索投射は一次味覚中枢である食道下神経節で加齢に伴い増加することが明らかとなった。また、老齢個体ではアラビノースに比較してスクロースに対する嗜好性が上昇すること、この様な嗜好性の変化は *dNPF* の活性化に寄るものであることを遺伝学的に明らかにした。以上のことから、加齢による *dNPF* の変化は栄養価のより高い砂糖の摂取を可能にし、生存に有利な食物摂取との条件付け記憶能力を向上させている可能性が示唆された。

② ドーパミン作動性神経細胞

砂糖の甘味と栄養は、ショウジョウバエの PAM と呼ばれるドーパミン作動性神経の異なるグループがそれぞれ伝達していることが知られている。アラビノースによる報酬記憶形成が老齢個体で低下していることから、甘味を伝達するドーパミン作動性神経の機能が低下している可能性を考えた。ドーパミン作動性神経の一過的な活性化と匂いの提示を同時に行うと、人工的な報酬記憶が形成されることが報告されている。しかし、老齢個体においては甘味を伝達するドーパミン作動性神経の活性化と匂いの提示により形成される人工的な報酬記憶は、若齢に比較して低下した。このことより、老化は一部のドーパミン作動性神経の機能を低下させ、生存に有利ではない食物摂取との条件付け記憶能を低下させている可能性が示唆された。

以上の研究結果より、個体にとってより生存利益の高い砂糖への感受性や嗜好性が加齢に伴い向上する一方で、生存利益に関与しない砂糖への嗜好性が低下するように長期的に神経回路が変化することによって、報酬記憶の加齢に対する感受性の差が生じる可能性が示唆された。このように、当初の目的である「記憶の種類により老化への感受性の差が生じる機構を神経回路レベルで明らかにすること」に関して十分な成果を挙げることができた。

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 5 件)

1. Yang P, Kajiwara R, Tonoki A, Itoh M. Successive and discrete spaced conditioning in active avoidance learning in young and aged zebrafish. *Neurosci Res.* 2017 Oct 14. pii: S0168-0102(17)30502-3. doi:10.1016/j.neures.2017.10.005.

2. Tanabe K, Itoh M, Tonoki A. Age-Related Changes in Insulin-like Signaling Lead to Intermediate-Term Memory Impairment in *Drosophila*. *Cell Rep.* 2017 Feb 14;18(7):1598-1605. doi:10.1016/j.celrep.2017.01.053.
3. Okano M, Matsuo H, Nishimura Y, Hozumi K, Yoshioka S, Tonoki A, Itoh M. Mib1 modulates dynamin 2 recruitment via Snx18 to promote Dll1 endocytosis for efficient Notch signaling. *Genes Cells.* 2016 May;21(5):425-41. doi:10.1111/gtc.12350
4. Tonoki A, Davis RL. Aging impairs protein-synthesis-dependent long-term memory in *Drosophila*. *J Neurosci.* 2015 Jan 21;35(3):1173-80. doi:10.1523/JNEUROSCI.0978-14
5. Chihara T, Kitabayashi A, Morimoto M, Takeuchi K, Masuyama K, Tonoki A, Davis RL, Wang JW, Miura M. Caspase inhibition in select olfactory neurons restores innate attraction behavior in aged *Drosophila*. *PLoS Genet.* 2014 Jun 26;10(6):e1004437. doi:10.1371/journal.pgen.1004437

[学会発表] (計 11 件)

1. 殿城亜矢子「老化に伴う神経回路の長期的変化による味覚感受性の応答」次世代脳プロジェクト 冬のシンポジウム 東京 2017/12/22
2. 殿城亜矢子、小笠原美奈、于智華、伊藤素行「生存利益を伴う報酬記憶は加齢に対して頑強性を示す」第 40 回日本神経科学学会大会 千葉 2017/7/20
3. 田辺憲人、伊藤素行、殿城亜矢子「記憶の維持と加齢性記憶障害におけるインスリン様シグナルによる全身性制御」第 39 回日本分子生物学会 横浜 2016/12/1
4. Ayako Tonoki, Kento Tanabe, Motoyuki Itoh “A critical role of insulin-like signaling in memory maintenance and age-related memory impairment in *Drosophila*” 12th Japanese *Drosophila* Research Conference. 東京 2016/9/10
5. 吉岡佐保、伊藤素行、殿城亜矢子「ショウジョウバエにおける老化に伴う長期記憶変化と Notch シグナル」BMB2015 京都 2015/12/2
6. 田辺憲人、伊藤素行、殿城亜矢子「記憶の維持と加齢性記憶障害におけるインスリン様シグナルの重要な役割」BMB2015 京都 2015/12/1
7. Kento Tanabe, Motoyuki Itoh, Ayako Tonoki “A critical role for insulin-like signaling in memory maintenance and age-related memory impairment in *Drosophila*”. EMBO meeting. Greece 2015/7/9

8. Ayako Tonoki "Age-dependent memory impairment". The 3rd Joint Symposium on Pharmaceutical Sciences between college of Pharmacy, Seoul National Univ. and Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Chiba Univ. 千葉、2014/11/21
9. 殿城亜矢子「嗅覚連合学習、老化、カルシウムイメージング」第7回分子高次機能研究会、静岡、2014/08/25
10. Ayako Tonoki, Ronald L. Davis. "Aging impairs protein synthesis dependent long-term memory in Drosophila". The 11th Japanese Drosophila research conference., 金沢, June 4-6, 2014.
11. Ayako Tonoki, Ronald L. Davis. "Aging impairs protein synthesis dependent long-term memory in Drosophila". Janelia Conference, "Structure and Function of the Insect Mushroom Body," 米国ワシントンDC April 27 - 30, 2014.

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

- 出願状況（計 0 件）
- 取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.p.chiba-u.jp/lab/seika/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

殿城 亜矢子 (Tonoki Ayako)

千葉大学大学院薬学研究院・講師

研究者番号：90645425