

平成 30 年 6 月 22 日現在

機関番号：32643

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K18368

研究課題名(和文) 鳥類刻印付け記憶の固定化に関わる神経回路の解析

研究課題名(英文) Neural circuits of memory consolidation in filial imprinting of domestic chicks

研究代表者

青木 直哉 (Aoki, Naoya)

帝京大学・薬学部・講師

研究者番号：50525334

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：鳥類刻印付けは孵化直後に親を覚える学習である。本研究では、刻印付けに必須の二つの領域、大脳連合野IMMと大脳背側部IMHA、の間の神経投射の遮断をすることによって、その神経投射が記憶の固定化に必需であることを明らかにした。また、cDNAマイクロアレイ解析によりWntを見出し、薬理学的実験からIMHA領域でのWntシグナルの働きを明らかにした。これにより、記憶形成に関わる神経回路と分子基盤の一端を明らかにすることができた。

研究成果の概要(英文)：In filial imprinting, newly hatched chick follows a moving object and memorizes it. Recently, we found that a brain region in telencephalon IMHA (intermediate medial hyperpallium apicale) receives neuronal projection from IMM (intermediate mesopallium) which is responsible brain region for imprinting. In this study, we investigated the neural circuits and molecular mechanisms for memory consolidation of imprinting. We revealed that neural circuits from IMM to IMHA is necessary for memory consolidation by The pathway-specific and reversible blockade of synaptic transmission. Moreover, we found that Wnt signaling in IMHA plays important roles for memory formation of imprinting.

研究分野：Behavioral Neuroscience

キーワード：imprinting memory trace memory consolidation thyroid hormone

1. 研究開始当初の背景

鳥類刻印付け(刷り込み)は孵化後間もないヒナが親を追従して覚える学習である。刻印付けには臨界期があり、孵化後約3日間しか成立しない。ニワトリヒナの刻印付けは早期学習や学習臨界期のモデルとして研究されてきた。刻印付けの初期記憶の形成に必須な脳領域は脳連合野に相当する IMM (intermediate mesopallium)領域であり、視床経由で視覚情報を受ける(図1)。我々は刻印付けの記憶の形成には血中からこの IMM 領域に流入する甲状腺ホルモン T_3 が必須であり、臨界期終了後であっても T_3 を IMM 領域へ注入すれば刻印付けの記憶形成が可能となることを示した。一方、IMM 領域は刻印付け記憶の形成と、刻印付け直後に思い出す(想起)には必要だが、24時間後に思い出すには必要でなくなる。このことから、刻印付けの記憶は IMM 領域で形成された後、他の領域に移って長期記憶として固定化(consolidation)されることが予想されていた。しかし、その領域は長く不明であった。その領域として我々は大脳背側部 IMHA (intermediate medial hyperpallium apicale)領域に着目して研究を行ってきた。これまでに、この IMHA 領域は IMM から IMHA への投射があり(図1)、刻印付け記憶の獲得24時間後に破壊すると想起できなくなることが明らかとなっている。したがって、刻印付けから24時間後までに、刻印付け対象の情報が神経投射を通して、IMM から IMHA へ伝わり IMHA で長期記憶として固定化されると考えられた。

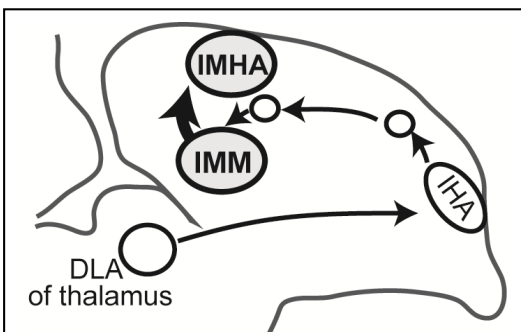


図1 刻印付けに関わる神経回路
刻印付けの初期記憶の形成に必要な領域 IMM は視床を経由した視覚情報を受ける。さらに IMM は IMHA)領域へ神経投射する。

2. 研究の目的

背景で述べた経緯に基づき、以下の2つのことを明らかにすることを目的とした。

(1) 刻印付け記憶の固定化に IMM-IMHA 経路が必要であるか明らかにする。

(2) 刻印付け記憶に関わる分子を同定する。これらを明らかにすることによって、鳥類大脳の IMM-IMHA 経路の記憶の固定化における機能を解析し、さらに記憶の固定化に関わる分子基盤を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 刻印付け記憶の固定化に IMM-IMHA 経路が必要であることを明らかにする。

IMM-IMHA 経路が刻印付け記憶の固定化に必要であることを示すために、経路特異的に神経伝達を遮断した。この方法では、順行性のウイルスベクターである avian adeno-associated virus (A3V) と逆行性のウイルスベクターであるレンチウイルスを用い、両方のウイルスベクターが遺伝子導入された細胞でのみ、ドキシサイクリン存在下で神経毒を発現させ神経伝達を遮断することができる。このウイルスを用いた経路選択的伝達遮断法により、刻印付けが成立した後に IMM-IMHA 経路を遮断し、この経路が刻印付け記憶の固定化に必要であるかを検討した。

(2) 刻印付け記憶に関わる分子基盤を同定した。

cDNA マイクロアレイ解析により、刻印付け記憶の形成に必須のホルモンである T_3 の静脈注射により、大脳で発現が上昇する遺伝子を網羅的に解析した。さらに、その中で1つの遺伝子に着目し、その遺伝子が刻印付け成立後 IMHA 領域に発現するかを in situ hybridization を用いて調べた。さらにその遺伝子に関わる細胞内シグナルを阻害剤によって阻害した時の、刻印付け成立への影響を調べた。

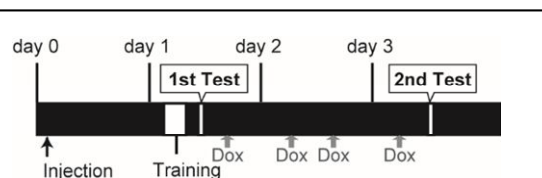


図2 選択的経路遮断の実験スケジュール
0日でウイルスを注入する。1日齢でトレーニングとテストを行い、その後ドキシサイクリン投与を始める。3日齢まで計4回投与する。

4. 研究成果

(1) ウイルスベクターを二重感染させて IMM-IMH 領域を選択的に経路遮断した群とコントロール群を用意した。0 日齢で両ウイルスを注入し、1 日齢でトレーニングと 1 回目のテストを行った(図 2)。トレーニングの 24 時間後、ドキシサイクリンを経口投与した。3 日齢で 2 度目のテストを行うまで、計 4 回ドキシサイクリンを投与した。結果、コントロール群では、1 回目、2 度目のテストで共に刻印付け対象を記憶していた(図 3)。しかし、経路選択的に伝達を遮断した群では 1 度目のテストで記憶していたにも関わらず、2 度目のテストでは覚えていなかった。つまり記憶獲得の 24 時間後の IMM-IMHA 経路の遮断により、刻印付け記憶の固定化ができなくなった。この結果は記憶の固定化に IMHA-IMHA 経路が必要であ

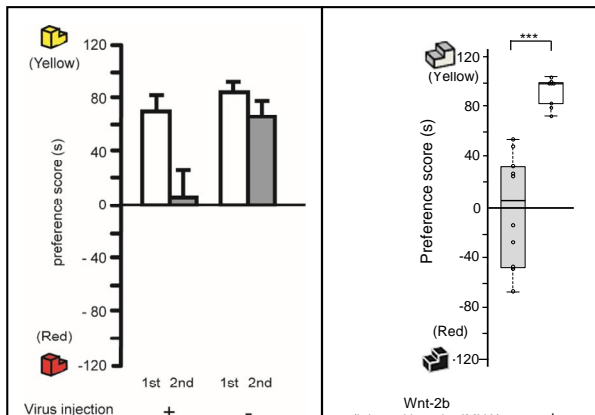


図3 IMM-IMHA 経路遮断の刻印付けへの影響
コントロール群では、2 回のテストで共に覚えていた。経路選択的に伝達を遮断した群では 1 度目のテストで記憶していたにも関わらず、2 度目のテストでは覚えていなかった。

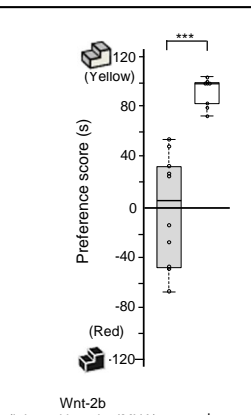


図5 Wnt-2b 注入の刻印付けへの影響。
Wnt-2b を IMHA 領域に注入したところ、臨界期を過ぎたヒナであっても刻印付けができるようになった

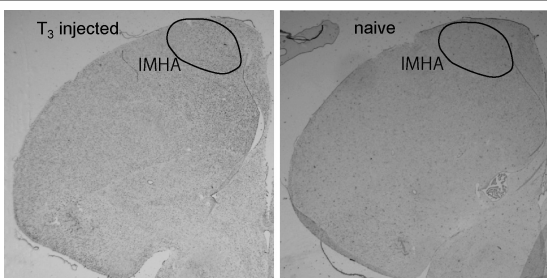


図4 T₃ 注入後の Wnt-2b の発現
In situ hybridization によって大脳のどの領域で Wnt-2b の発現が T₃ の静脈注射によって上昇するか調べた。その結果、Wnt-2b mRNA は IMHA 領域で発現上昇が見られた

ることを示唆している。

(2) まず、cDNA マイクロアレイ解析により、T₃ の静脈注射により大脳で発現する遺伝子を網羅的に解析した。その結果、上昇する複数の遺伝子が見出された。その中で神経軸索ガイダンスやシナプス形成に関わるとされる Wnt-2b に着目してさらに実験を行った。In situ hybridization によって大脳のどの領域で Wnt-2b の発現が T₃ の静脈注射によって上昇するか調べた。その結果、Wnt-2b mRNA は IMHA 領域で発現上昇が見られた(図 4)。次に、行動薬理的な実験を行い、実際に Wnt シグナルが刻印付けに関わるかを調べた。IMHA 領域に Wnt シグナル伝達の阻害剤を注入したところ、刻印付けが阻害された。逆に、Wnt-2b を IMHA 領域に注入したところ、臨界期を過ぎたヒナであっても刻印付けができるようになった(図 5)。これらの結果から、刻印付けの記憶が固定化される際に IMHA-IMHA 経路を通して視覚的な情報が送られ、IMHA 領域で Wnt シグナルがシナプス形成などの重要な働きをしていると考えられる。

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) 山口真二、青木直哉、松島俊也、本間光一、Wnt-2b in the intermediate hyperpallium apicale of the telencephalon is critical for the thyroid hormone-mediated opening of the sensitive period for filial imprinting in domestic chicks (*Gallus gallus domesticus*), hormones and behavior、査読有、102、2018、120-128
doi: 10.1016/j.yhbeh.2018.05.011.

(2) 竹村友里、山口真二、青木直哉、三浦桃子、本間光一、松島俊也、Gene expression of Dio2 (thyroid hormone converting enzyme)

in telencephalon is linked with predisposed biological motion preference in domestic chicks、Behavioural Brain Research、査読有、349、2018、25-30
doi: 10.1016/j.bbr.2018.04.039.

(3)山口真二、早瀬晋、青木直哉、武原顕彦、石郷岡潤、松島俊也、和多和弘、本間光一
Sex Differences in Brain Thyroid Hormone Levels during Early Post-Hatching Development in Zebra Finch (*Taeniopygia guttata*).、PloS One、査読有、12、2017、e0169643
doi: 10.1371/journal.pone.0169643.

〔学会発表〕(計8件)

国際学会

(1)山口真二、青木直哉、本間光一、Thyroid hormone-mediated actin dynamics regulate the reopening of the sensitive period of filial imprinting in chicks、2017、Neuroscience、Washington DC、Society for Neuroscience

(2) 山口真二、青木直哉、本間光一、Critical role of the novel neural pathway in the cerebrum in filial imprinting of newly-hatched domestic chicks、2016、Integrative Network Linking Multiple Brain Areas for Behavioral Adaptation

国内学会

(3) 青木直哉、山口真二、本間光一、鳥類において甲状腺ホルモンは課題転換学習を促進する、2018年、日本動物学会第70回関東支部大会(東京)

(4) 山口真二、青木直哉、本間光一、Wnt-2bは、鳥類の刷り込み臨界期を開くために必要である、2018年、日本動物学会第70回関東支部大会(東京)

(5) 青木直哉、山口真二、本間光一、刷り込みの課題転換学習に対する促進効果、2017年、日本動物学会第88回大会(富山)

(6) 山口真二、青木直哉、本間光一、甲状腺ホルモンはアクチンダイナミクスを制御し、閉じた刷り込み臨界期を開く、2017年、日本動物学会第88回大会(富山)

(7) 青木直哉、武原顕彦、山口真二、本間光一、課題転換学習における甲状腺ホルモンの学習促進効果は学習経験に依存する。2017年、第40回日本神経科学学会(幕張)

(8) 武原顕彦、青木直哉、山口真二、本間光一、ニワトリヒナにおいて甲状腺ホルモンは学習経験依存の学習促進効果をもたらす、2016年、日本動物学会第68回関東支部大会(横浜)

〔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

6. 研究組織
(1)研究代表者
青木直哉(AOKI, Naoya)
帝京大学・薬学部・講師
研究者番号：50525334

(2)研究分担者 ()

研究者番号：

(3)研究協力者

()