

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：32658

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24650172

研究課題名(和文) 記憶アップデートの分子マーカーとしてのプロテオソーム依存性タンパク質分解の有効性

研究課題名(英文) Roles of proteasome-dependent protein degradation in updating memory

研究代表者

喜田 聡 (Kida, Satoshi)

東京農業大学・応用生物科学部・教授

研究者番号：80301547

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、獲得した情報を常に独立した記憶として新規保存しているわけではなく、新しい情報を既存の記憶に結びつける「記憶アップデート」を随時行っている。しかし、記憶アップデートの分子基盤はほとんど理解されていない。本課題では、複数のマウス記憶課題を用いて、記憶アップデートが誘導される場合に脳内でプロテオソーム依存性タンパク質分解が誘導されることを発見した。一方、記憶形成時にはこのタンパク質分解は観察されなかった。また、薬理学的手法を用いた解析では、このタンパク質分解を阻害すると記憶アップデートが阻害された。以上の結果から、プロテオソーム依存性タンパク質分解が記憶アップデートの起点となると結論した。

研究成果の概要(英文)：In this study, we tried to understand molecular mechanisms by which memory is updated. To do this, we examined roles of proteasome-dependent protein degradation in process such as memory reconsolidation and extinction, both of which are models of updating memory, using several memory tasks in mice. We found that proteasome-dependent protein degradation is activated when retrieved memory is reconsolidated, enhanced or extinguished. In contrast, this protein degradation was not activated when memory is initially consolidated. Furthermore, the inhibition of proteasome-dependent degradation using drugs blocked destabilization, enhancement and extinction of retrieved memory. Taken together, our observations suggest that activation of proteasome-dependent protein degradation is required for update (modification) of existing memory. It is possible that proteasome-dependent protein degradation is an useful molecular marker of updating memory.

研究分野：神経科学

科研費の分科・細目：神経生理学・神経科学一般

キーワード：神経科学 脳・神経 記憶再固定化 記憶消去 記憶想起 記憶アップデート タンパク質分解 記憶固定化

1. 研究開始当初の背景

記憶の研究は世界的に盛んに進められている。現在の記憶研究の圧倒的多数は、約100年前に提唱された「固定化仮説(Consolidation theory)」に基づき、初期情報の獲得による新規記憶の形成機構を、分子・細胞・個体レベルの様々な角度から解析を進めるものである。一方、2000年、げっ歯類を用いた実験心理学的解析から、想起後に記憶を再保存するために「再固定化」が必要となることが示された。この発見から、記憶回路は形成後に変化しない静的なものではなく、変化しうる「動性」を秘めていることが示され、「記憶アップデート」を制御する動的な記憶回路制御基盤の存在が強く示唆された。しかし、記憶アップデートと再固定化の関連が唱えられて久しいものの、再固定化の意義や記憶アップデートを解明しようとするアプローチの多くは、げっ歯類を用いた既存の行動パラダイムを応用して行動実験の積み重ねで検証する解析に終始するものがほとんどである。これに対して、脳内に起こる分子現象に基づいて、記憶アップデートのメカニズムを理解しようとする分子細胞生物学的研究はほとんど行われていない。他方、国内でも、行動レベルの記憶制御機構にフォーカスし、個体の現象から掘り下げて、回路、細胞、分子レベルでその制御機構を解析する試みは極めて少ないのが現状である。

研究代表者は、再固定化を含めた記憶制御機構を解析するための行動パラダイムを独自に開発し、分子・細胞・回路レベルでこの制御機構を解析し、研究成果を発表してきた(Nat Neurosci, 2002; J Neurosci, 2004, 2008, 2009, 2011)。この過程で、記憶アップデート時にのみプロテオソーム依存性のタンパク質分解が活性化されており、このタンパク質分解は記憶がアップデートされる際の分子マーカーとなるのではないかと仮説を立てた。

2. 研究の目的

我々は、獲得した情報を常に独立した記憶として新規保存し続けているわけではない。新しい情報を既存の記憶に結びつける「記憶アップデート」が随時行われており、この制御基盤の存在が我々の柔軟な精神活動を可能にしている。しかし、記憶アップデートの分子基盤はほとんど理解されていない。本課題では、記憶の固定化(新規形成)時と比較しつつ、アップデート時の脳内におけるプロテオソーム依存性のタンパク質分解活性とその記憶制御に対する役割を解析することで、「プロテオソーム依存性のタンパク質分解が記憶アップデートの起点となる」との仮説を検討することを目的とした。

実際には、恐怖条件付け文脈記憶、恐怖音条件付け記憶、新規物体認識課題及び社会認識記憶等の行動実験系を応用し、固定化時と比較しつつ、アップデート時(再固定化、消

去、新規情報付加など)の脳内プロテオソーム依存性のタンパク質分解活性を詳細解析する。さらに、プロテオソーム依存性のタンパク質分解を薬理的に阻害することで、記憶固定化と比較しつつ、記憶アップデートに対するプロテオソーム依存性のタンパク質分解の役割を検証する。以上の解析を通して、申請者の仮説を検討し、記憶アップデート時特異的な分子マーカーとしてのプロテオソーム依存性のタンパク質分解の有用性を検討する。

3. 研究の方法

記憶アップデートに対するプロテオソーム依存性のタンパク質分解の普遍的役割を明らかにするため、恐怖条件付け文脈記憶、受動的回避反応記憶、新規物体認識課題及び社会認識記憶等の行動実験学的パラダイムを応用して、固定化時と比較しつつ、アップデート時(再固定化、消去、新規情報付加など)における脳内プロテオソーム依存性のタンパク質分解の活性化状態を組織免疫染色法により解析した。それぞれの記憶パラダイムにおけるトレーニング、あるいは、記憶想起の90-120分後に、ポリユビキチンを認識する抗体を用いた組織免疫染色を行い、脳内においてプロテオソーム依存性のタンパク質分解が活性化される領域を同定した。さらに、プロテオソーム依存性のタンパク質分解の阻害剤を脳内に微量注入することにより、記憶アップデートに対するプロテオソーム依存性のタンパク質分解の役割を行動レベルで解析した。

4. 研究成果

免疫組織染色法を用いて恐怖記憶固定化時のプロテオソーム依存性のタンパク質分解活性を解析した結果、固定化に必須な領域である海馬には、プロテオソーム依存性のタンパク質分解の活性化は観察されず、また、海馬におけるプロテオソーム依存性のタンパク質分解の阻害も固定化には影響を与えなかった。従って、固定化、すなわち、最初に記憶が形成される際にはプロテオソーム依存性のタンパク質分解が必要とされないことが明らかとなった。さらに、複数の海馬依存性の記憶課題において、記憶固定化時には海馬では、タンパク質分解の活性化は観察されず、また、プロテオソーム依存性のタンパク質分解の阻害も固定化には影響を与えなかった。従って、固定化、すなわち、最初に記憶が形成される際にはプロテオソーム依存性のタンパク質分解が必要とされないことが明らかとなった。

これに対して、恐怖記憶再固定化時には、海馬において、プロテオソーム依存性のタンパク質分解の活性化が観察され、また、このタンパク質分解の阻害は再固定化を誘導するために必要な「記憶不安定化」を阻害することが明らかとなった。また、記憶消去時にも脳内の複数の領域で、プロテオソーム依存性のタンパク質分解の活性化が観察され、また、

このタンパク質分解の阻害は消去を阻害することが明らかとなった。以上の結果は、プロテオソーム依存的タンパク質分解の活性化は、(既に貯蔵されていた)記憶の想起時にのみ活性化されることを示しており、プロテオソーム依存的タンパク質分解は記憶アップデート時に活性化されることを強く示唆するものであった。さらに、このプロテオソーム依存的タンパク質分解と初期応答遺伝子の遺伝子発現を比較することで、「新規性」認識に関与する脳内領域とニューロンの同定が可能となることが示唆された。以上の結果から、既存の記憶アップデート時にプロテオソーム依存的タンパク質分解タンパク質分解が活性化され、このタンパク質分解の活性化が記憶アップデートの指標となると結論した。

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 8 件)

- (1) Fukushima, H., Zhang, Y., Archbol, G., Ishikawa, R., Nader, K. Kida, S., Enhancement of fear memory by retrieval through reconsolidation, **eLife**, 査読有, in press
- (2) Kida, S. & Serita, T. Functional roles of CREB as a positive regulator in the formation and enhancement of memory, **Brain Research Bulletin**, 査読有, in press DOI: 10.1016/j.brainresbull.2014.04.011.
- (3) Ishikawa, R., Kim, R., Namba, T., Kohsaka, S., Uchino, S. & Kida, S., Time-dependent enhancement of hippocampus-dependent memory after treatment with memantine: implications for enhanced hippocampal adult neurogenesis, **Hippocampus**, 査読有, in press DOI: 10.1002/hipo.22270.
- (4) Kato, K., Iwamoto, T. & Kida, S., Interactions between α CaMKII and calmodulin in living cells: conformational changes arising from CaM -dependent and -independent relationships, **Mol. Brain**, 査読有, 6, 2013, 37 DOI: 10.1186/1756-6606-6-37.
- (5) 喜田聡、記憶形成とアップデートのメカニズム、**化学と生物**、査読有、51、2013、81-89
- (6) 喜田聡、レチノイン酸受容体、**分子精神医学**、査読無、13、2013、307-309
- (7) Descalzi G, Fukushima H, Suzuki A, Kida S, Zhuo M., Genetic enhancement of neuropathic and inflammatory pain by forebrain upregulation of CREB-mediated transcription, **Mol. Pain**, 査読有, 8, 2012, 90 DOI: 10.1186/1744-8069-8-90.
- (8) Wang, H., Morishita, Y., Miura, D., Naranjo, J.R., Kida, S. & Zhuo, M., Roles of CREB in the regulation of FMRP by group I metabotropic glutamate receptors in

cingulate cortex, **Mol. Brain**, 査読有, 5, 2012, 27

DOI: 10.1186/1756-6606-5-27.

〔学会発表〕(計 24 件)

- (1) 谷水俊之、門間和音、岡野絵美子、張悦、福島穂高、喜田聡、社会的認知記憶に基づく新規性認識メカニズムの組織学的解析、第 58 回日本農芸化学大会、2014 年 3 月 27-30 日、東京
- (2) Tatsuro SERITA, Hotaka FUKUSHIMA, Satoshi KIDA, Enhancement of temporal association learning and working memory by up-regulation of CREB activity in forebrain, The 36th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, 2013 年 12 月 3-6 日、神戸
- (3) Toshiyuki TANIMIZU, Kazune KADOMA, Emiko OKANO, Yue ZHANG, Hotaka FUKUSHIMA, Satoshi KIDA, Identification of neural network recognizing “novelty” in the social recognition task in mice, Neuroscience 2013 (The 43rd Annual meeting for Society for Neuroscience), 2013 年 11 月 9-13 日, San Diego, California
- (4) 喜田聡、記憶制御に対する栄養素の役割、食と生命のサイエンス・フォーラム「脳の認知機能に及ぼす栄養の役割」、2013 年 10 月 2 日、東京
- (5) Kida, S., Role of Calcineurin in Enhancement of Fear Memory after Retrieval, The 8th International Conference for Neurons and Brain Diseases, 2013 年 7 月 2-4 日, National University of Singapore, Singapore
- (6) Kida, S., Neural circuits and cellular and molecular mechanisms underlying fear learning, 11th World Congress of Biological Psychiatry (“Perspectives in neurobiology of PTSD and disaster-related psychiatric disorders”), 2013 年 6 月 25 日, Kyoto
- (7) Kida, S., Dynamic regulation of fear memory after retrieval: Therapeutic targets for the treatment of PTSD, WFSBP Neuro Joint Symposium (“Neurocircuit for physiological and pathophysiological brain”), 2013 年 6 月 23 日, Kyoto
- (8) 谷水俊之、門間和音、岡野絵美子、張悦、福島穂高、喜田聡、社会的認知記憶に基づく新規性認知に関わる脳領域の組織学的解析、第 36 回日本神経科学大会、2013 年 6 月 20-23 日、京都
- (9) Kida, S., Enhancement of fear memory after retrieval, The 6th Molecular Cellular Cognition Society (MCCS)-Asia Symposium (“Molecular, Cellular and Circuit Mechanisms underlying Cognition”), 2013 年 6 月 19 日, Kyoto
- (10) Toshiyuki TANIMIZU, Kazune KADOMA, Emiko OKANO, Yue ZHANG, Hotaka FUKUSHIMA, Satoshi KIDA, Identification of neural network recognizing “novelty” in the social recognition task in mice, The 6th Molecular Cellular Cognition Society (MCCS)-Asia Conference, 2013 年

- 6月19日, 京都
- (11) Kyohei KONO, Yue ZHANG, Toshiyuki TANIMIZU, Emiko OKANO, Satoshi KIDA, Analysis of brain regions regulating consolidation of novel object recognition memory, The 6th Molecular Cellular Cognition Society (MCCS)-Asia Conference, 2013年6月19日, 京都
 - (12) Kida, S., Dynamic regulation of fear memory after retrieval, Meeting México-Japan (Memory Traces & Tags), 2013年4月25-26日, Centro Académico Cultural UNAMx, Mexico
 - (13) Kida, S., Enhancement of fear memory after retrieval, ISN-ASN 2013 (Mechanisms of memory enhancement of erasure), 2013年4月20-24日, Cancun, Mexico.
 - (14) 谷水俊之、門間和音、岡野絵美子、張悦、福島穂高、喜田聡、社会的認知制御記憶固定化および社会性認知記憶に基づいた新規性認知機構の組織学的解析、第57回日本農芸化学会大会、2013年3月24-28日、仙台
 - (15) 河野恭平、張悦、谷水俊之、岡野絵美子、喜田聡、新規物体認知記憶固定化制御機構の脳組織学的解析、第57回日本農芸化学会大会、2013年3月24-28日、仙台
 - (16) 喜田聡、想起後の恐怖記憶制御のダイナミクス、自然科学研究機構国際拠点形成プロジェクト「脳の階層的研究」報告会 & シンポジウム、2013年3月5日、岡崎
 - (17) Kida S., Dynamic regulation of fear memory after retrieval, MCCS-Australia (Asia-pacific), 2013年2月2日, Melbourne, Australia
 - (18) 喜田聡、Enhancement of fear memory after retrieval through protein degradation and synthesis, 第35回日本分子生物学会ワークショップ「遺伝子発現とタンパク質分解によって産み出される記憶制御のダイナミクス」、2012年12月11日、福岡
 - (19) 谷水俊之、門間和音、岡野絵美子、張悦、福島穂高、喜田聡、社会的認知記憶固定化及び再固定化制御機構に関わる脳領域の同定、第35回日本分子生物学会年会、2012年12月11-14日、福岡
 - (20) 河野恭平、張悦、谷水俊之、喜田聡、新規物体認知記憶固定化における制御機構の脳組織学的解析、第35回日本分子生物学会年会、2012年12月11-14日、福岡
 - (21) 喜田聡、タンパク質分解を起点とした想起後の記憶制御、生理学研究所シンポジウム「記憶回路研究会」個体内記憶回路の同定とその機能解析による学習記憶制御基盤の統合的理解、2012年11月20-21日、岡崎
 - (22) 喜田聡、特異的ニューロン集団が産み出す想起後の記憶制御のダイナミクス、第35回日本神経科学大会シンポジウム「個々の神経細胞の働きを俯瞰して見る脳機能」、2012年9月19日、名古屋
 - (23) 谷水俊之、門間和音、岡野絵美子、張悦、福島穂高、喜田聡、社会的認知記憶固定化及び再固定化を制御する脳領域の組

- 織学的解析、第35回日本神経科学大会、2012年9月18-21日、名古屋
- (24) 喜田聡, Dynamic regulation of fear memory after retrieval by distinct neural circuits, National Institute for Physiological Sciences International Workshop 2012 Central Neuroplasticity in Sensory-Emotional Link, 2012年9月15日, Okazaki, Japan

〔図書〕(計2件)

- (1) Kida, S., Elsevier社, Memory reconsolidation versus extinction, 「Memory reconsolidation」(Cristina Alberini 編集), 2013年4月刊, 336ページ中(119-137ページ)
- (2) 喜田聡, World Scientific社, Memory reconsolidation and extinction, 「Memory Mechanisms on Health and Disease」(Karl Peter Giese 編集), 2012年刊 444ページ中20ページ

6. 研究組織

(1)研究代表者

喜田聡 (KIDA, Satoshi)
 東京大学・応用生物科学部・教授
 研究者番号: 80301547