

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 20 日現在

機関番号：32643

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790089

研究課題名(和文) 鳥類刻印付けにおける神経栄養因子の機能解析

研究課題名(英文) functional roles of Brain-derived neurotrophic factor for filial imprinting of domestic chicks

研究代表者

青木 直哉 (Aoki, Naoya)

帝京大学・薬学部・助教

研究者番号：50525334

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：刻印付けは孵化直後のヒナが動く物体を繰り返し追従し、記憶する現象である。これまで、刻印付けに関わる遺伝子機構はほとんど明らかにされてこなかった。そこで、刻印付け直後に最も発現した脳由来神経栄養因子BDNFに着目した。刻印付けに必須の脳領域IMHAでBDNFの発現上昇、さらにBDNF受容体TrkBやその下流のAktのリン酸化の促進を見出した。これはBDNF/TrkBシグナリングが刻印付けに関わることが示唆する。しかし、IMHA領域へのBDNFやTrkBの阻害剤の直接注入では、学習促進や阻害は見られなかった。これらはBDNFは刻印付けに関わるが、必須ではなく他の因子に補助的に働くことを示唆する。

研究成果の概要(英文)：In avian filial imprinting, newly hatched chicks follow a moving object and memorize it. Gene organizations for the imprinting were not known well. We have focused on BDNF (Brain-derived neurotrophic factor) whose gene expressed the most after imprinting. We found expression of BDNF in IMHA which is necessary for imprinting, and phosphorylation of TrkB (BDNF receptor) and Akt (downstream of TrkB). This suggested BDNF/TrkB signaling is involved in imprinting. Furthermore, we examined the effects of injections of BDNF or K252a, antagonist of TrkB, in the imprinting acquisition. We could not find any effects of the injections in imprinting. These suggest the BDNF is involved in imprinting, but is not necessary for the acquisition.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：学習臨界期 刻印付け 記憶 初期学習

1. 研究開始当初の背景

(1) 鳥類刻印付けは、孵化後間もないヒナが近くで繰り返し曝された視覚刺激を覚え、追従する現象である。この記憶はニトリヒナにおいても、数時間のトレーニングによって獲得させることが可能である。また、明確な獲得臨界期があり、早期学習の有用なモデルである。獲得に関わる脳領域や伝達物質など重点的に調べられてきたが、どのような大脳遺伝子群の発現や神経微細構造の変化が記憶獲得に重要であるかはほとんど明らかにされていない。

(2) cDNA マイクロアレイ解析により刻印付け直後に脳由来神経栄養因子 BDNF が最も発現した。BDNF は発生過程で神経細胞の分化誘導や生存維持に関わるだけでなく、脳スライスを用いた実験から、神経活動依存に合成・分泌され、その受容体 TrkB を介して神経細胞の活動やシナプス接続の強化に関わることが明らかとなっている。しかし、生後間もない時期の学習おける機能の個体を使った解析はほとんど行われていない。

2. 研究の目的

早期学習のモデルである刻印付けに関わる脳内機構を調べる。脳由来神経影響因子 BDNF に着目し、BDNF/TrkB シグナリングの刻印付けでの役割に検証し、刻印付けの遺伝子機構を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) in situ habilitation 法により BDNF の局在を調べる。イムノブロット法により BDNF 受容体 TrkB や TrkB 下流 Akt のリン酸化調べる。

(2) BDNF や BDNF 受容体 TrkB の阻害剤 K252a の注入により、刻印付け獲得への影響を調べた。孵化後間もないヒナを用い、刻印付けに必須な脳領域である

IMHA 領域に直接注入した。回復した後、刻印付けトレーニング及びテストを行い刻印付け獲得への BDNF 及び K252a の影響を調べた。

4. 研究成果

(1) in situ habilitation 法により刻印付けに必要な大脳領域 (IMHA, intermediate medial hyperpallium apicale) で BDNF の発現が刻印付けの直後に高まることを見出した。さらに、イムノブロット法により BDNF 受容体 TrkB やその下流の Akt のリン酸化が促進されることを見出した (図1、図2)。これは BDNF/TrkB シグナリングが刻印付けに関わっていることを示唆している。

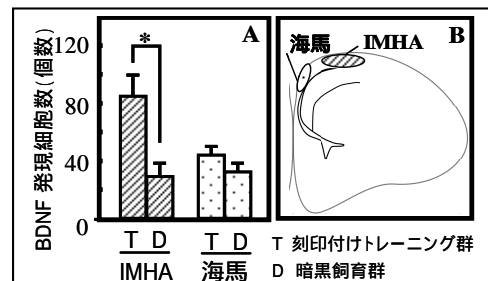


図1 IMHA 領域での BDNF 発現細胞数の増加

A) 刻印付けに伴い BDNF 発現細胞数は、刻印付けに必要な IMHA 領域で増加していた。一方、空間記憶に関わる海馬では増加していなかった。B) IMHA 領域と海馬の位置を大脳片側冠状断面図に示した。

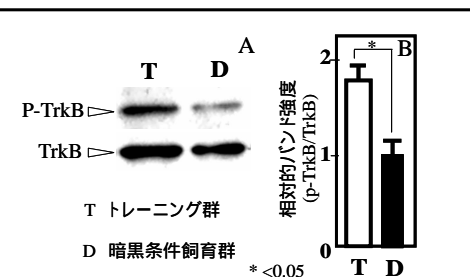


図2 TrkB の刻印付けでの活性化

A) BDNF の受容体 TrkB は刻印付けによりリン酸化が亢進され、活性化された。B) TrkB に対するリン酸化 TrkB の相対的バンド強度を示した。TrkB を介したシグナリングが刻印付けの初期過程で活性化されていると考え

(2) BDNF や BDNF 受容体 TrkB の阻害剤 K252a を IMHA 領域に直接注入し、刻印付け獲得への影響を調べた。BDNF を注入した群では学習の促進を予想したが、コ

ントロールと差はなかった。一方、K252aを注入した群では、学習の阻害を予想したが、こちらにもコントロールと差はなかった。これらはBDNFは刻印付けに関わるが、必須ではなく他の因子に補助的に働くことを示唆する。

(3) その他の因子として、甲状腺ホルモンを見出している。cDNAマイクロアレイ解析により刻印付け直後にDio2の発現がみられた。Dio2は不活型甲状腺ホルモンT₄を活性型甲状腺ホルモンT₃へ変換する酵素である。in situ hybridization法により、Dio2が刻印付けに必須な領域IMMに特に発現していることを見出した。また、刻印付けトレーニングによって、一過的に脳内T₃濃度が上昇し、このT₃濃度の上昇が刻印付けの成立に必須であることを見出した(図3)。

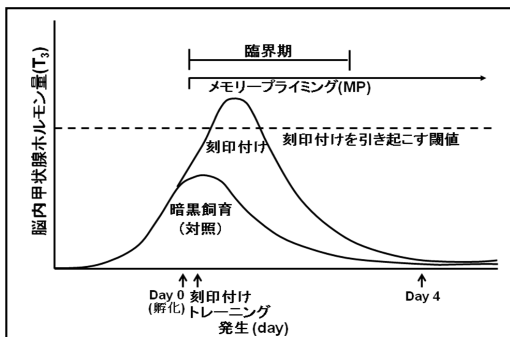


図3. 記憶プライマーとしてのT₃

臨界期内での刻印付け(刷り込み)学習開始後、血中から脳内へT₃の急速な流入が起こり、閾値を超えることで刷り込みが成立する。同時にプライミングが起こり、以後の他の学習が可能となる。プライミングは、刷り込みによらずとも、T₃を与えることによって代替できる。

(4) さらに、甲状腺ホルモンT₃が刻印付けの獲得臨界期を開始する鍵となっていることを見出した(図3)。ニワトリヒナの刻印付けの臨界期は、従来、孵化直後から3日である。しかし、臨界期が閉じた4日齢のヒナにT₃を静脈注射すると、刻印付けが獲得可能となった。これは一度閉じた臨界期がT₃によってふたたび開いたと考えられる。また、1日齢にT₃を静脈注射しておく、臨界期が閉じる4日齢になっても刻印付け可能であった。これは一度、T₃によって臨界期が開くと維持されることを示している。このように、

T₃によって学習が引き起こされることから、この現象を記憶プライミング(メモリープライミング)と呼んでいる。さらに、このT₃の記憶プライミング効果は刻印付けだけでなく、強化学習でも見出された。これは階層的な学習において、まず初めに刻印付け学習によりT₃濃度が上昇し、それにより、刻印付けとその後の学習がトリガーされると考えられる。

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2件)

1. Yamaguchi S, Kurokawa T, Taira I, Aoki N, Sakata S, Okamura Y, Homma KJ. Potential role of voltage-sensing phosphatases in regulation of cell structure through the production of PI(3,4)P. *Journal of cellular physiology* (査読有)229: 422-433 (2014)

2. Yamaguchi S, Aoki N, Kitajima T, Iikubo E, Katagiri S, Matsushima T, Homma KJ. Thyroid hormone determines the start of the sensitive period of imprinting and primes later learning. *Nature communications* (査読有)3: 1081 (2012)

[学会発表](計4件)

1. 山口真二、青木直哉、北島孝明、松島俊也、本間光一 鳥類刻印付け感受性期の開始を決定するメモリープライミング
Neuro2013(第36回日本神経科学大会、第56回日本神経化学学会大会、第23回日本神経回路学会大会 2013年6月(京都))

2. S. Yamaguchi, N. Aoki, T. Kitajima, T. Matsushima, K. J. Homma. Thyroid hormone determines the start of the sensitive period of visual imprinting
Neuroscience 2012(Society for Neuroscience), October 17, 2012

3. N. Aoki, S. Yamaguchi, T. Kitajima, T. Matsushima, K. J. Homma Rapid inflow of thyroid hormone induced by visual imprinting primes later learning. Neuroscience 2012(Society for Neuroscience), October 17, 2012

4. 本間 光一、山口真二、青木直哉、松島俊也 甲状腺ホルモンは鳥類親子刷り込みの感受性期の開始を決定する 日本動物学会 第83回大会、9月15日2012年、大阪

研究者番号：

〔図書〕(計 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：
出願年月日：
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

青木直哉 (Aoki, Naoya)
帝京大学・薬学部・助教
研究者番号：50525334

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()