

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：30110

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25461735

研究課題名(和文) 視覚性記憶に係わる嗅周皮質ニューロン内カルシウムイオン依存性情報伝達経路の役割

研究課題名(英文) Role of calcium ion-dependent signaling pathway in the perirhinal cortical neurons related to visual memory

研究代表者

安部 博史 (ABE, Hiroshi)

北海道医療大学・心理科学部・准教授

研究者番号：20344848

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：アルツハイマー病における記憶障害は、嗅周皮質の障害に関連する。嗅周皮質が担う視覚性記憶には同皮質のカルシウムイオン依存性の情報伝達が不可欠である。本研究では、カルシウム依存性情報伝達経路の一つに関連するアネキシンA I Iと視覚性記憶の関連について行動学および形態学的に検討することを目的とした。オペラント条件づけを用いて視覚性記憶課題をラットに習得させた。これは嗅周皮質の損傷により障害されることが明らかにされた。しかしながら、嗅周皮質におけるアネキシンA I Iはこの記憶にはあまり関与しておらず、そのほかの情報伝達系経路が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Memory impairment in Alzheimer's disease is associated with lesion of the perirhinal cortex. The calcium ion-dependent information transmission in this cortex is indispensable for the visual memory. In this study, we aimed to examine the behavioral and morphological relationships between annexin A I I and visual memory associated with one of the calcium - dependent signal transduction pathways. The operant conditioning was used to make rats learn the visual memory task. This was impaired by damage of the perirhinal cortex. However, annexin A I I in this cortex was not so involved in this memory, suggesting that other signal transduction pathways might play an important role.

研究分野：心理学

キーワード：視覚性記憶 嗅周皮質 シグナル伝達

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病では、前脳基底部のコリン作動性ニューロンの損傷がみられ、同ニューロンの入力を失った大脳皮質の機能低下が認知症状の原因の一つになっていると考えられる(Sivaprakasam, 2006)。アルツハイマー病に見られる記憶障害の一つに、単語、物、顔や概念についての記憶、すなわち意味記憶 (semantic memory) の障害がある (Adlam et al., 2006)。この意味記憶には、海馬が関与しておらず、側頭葉内側部に存在する嗅周皮質が重要な役割を果たしている (Davies et al., 2004)。我々は、サルやラットを用いた検討によって、ヒトの「意味記憶」に相同であると考えられる「物体についての記憶」が、海馬損傷後には障害されず、嗅周皮質損傷後に障害されることを明らかにしてきた (Abe et al., 2004a, 2009)。さらに、物体についての記憶には、嗅周皮質におけるムスカリン性アセチルコリン (mACh) 受容体と関連した可塑的メカニズムが重要である可能性についても指摘してきた (Abe & Iwasaki, 2001; Abe et al., 2004b)。

アネキシン AII は Ca^{2+} 依存性リン脂質結合タンパクであり、 Ca^{2+} 依存性にヘテロ四量体を形成し活性化する (Waisman, 1995)。空間的学習後の海馬においては、活性化型アネキシン AII が増加する。それらは樹状突起の脂質ラフト部に凝集し、シナプスの形状を変化させ、開口放出を含むシグナル伝達や細胞接着などを調節している可能性がある (Zhao, et al., 2004)。アネキシン AII の発現は海馬に限局せず、大脳皮質全体にわたることから、嗅周皮質のような領域が担う学習機能にも密接に関与していることが予測される。

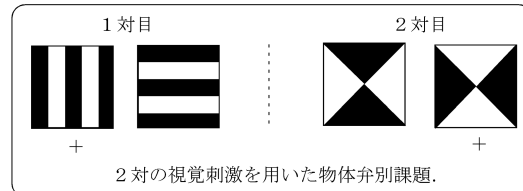
2. 研究の目的

そこで、嗅周皮質ニューロンにおいて視覚性記憶に関連するアネキシン AII の活性を介するシグナル伝達経路の関与の有無の明らかにすることを目的とし、行動学および免疫組織学的検討を行った。

3. 研究の方法

Long-Evans 系の雄ラットを学習群と統制群に割り当てた。オペラント箱において、同時的複式物体弁別課題を習得させた (学習群)。まず、オペラント箱の側面に設置された PC ディスプレイ上に二つ視覚刺激が提示される。ラットが正刺激の下部に設置されたレバーを押すと、報酬受け皿上に落とされる餌ペレットを得ることができる。正刺激と負刺激が二つのうちのどちらのレバー上に表示されるかは、試行毎にランダムとした。次の試行では、先の試行で用いた視覚刺激とは異なる視覚刺激についての弁別を同様の手続きで行う。このように 2 対の視覚刺激に

ついての弁別を、15 秒の試行間隔で 1 日 1 セッション、100 試行遂行させる。学習基準は 80% 以上の正反応率が 2 セッション連続することとした。統制群においてはディスプレイ上に呈示される視覚刺激がなんでもあり、刺激提示後にレバーへ反応すれば報酬を得ることが出来た。学習基準到達後 (統制群では、同数のセッション終了後)、免疫組織化学的検索によるアネキシン AII の部位局在について検討した。



4. 研究成果

(1) 行動学的検討: Long-Evans 系の雄ラットを用いた。防音箱内に設置されたオペラント箱において、PC ディスプレイを使用した視覚的同時複式物体弁別課題を習得させた。2 対の視覚刺激についての弁別を、15 秒の試行間隔で 1 日 1 セッション、100 試行遂行させた。学習基準は 80% 以上の正反応率が 2 セッション連続することとした。興奮性アミノ酸である NMDA を用いて関心領域である嗅周皮質を薬理的に損傷破壊したところ、獲得された学習が障害されることが明らかになり、本学習課題の妥当性が明らかになった。

(2) 形態学的検討: 上記行動課題遂行に関連した、アネキシン AII の発現、活性化およびその部位局在について免疫組織化学的に検討するため、2 種類の抗体、2 種類の濃度を用いて、脳切片を試行錯誤的に染色し、最適な染色条件を探索した。免疫組織学的検討によりアネキシン AII に対して陽性の反応を示す細胞が、嗅周皮質をはじめとする脳内関連領域において確認された。しかしながら、課題遂行や行動課題の正反応率との関連については明確な相関を認めることはできず、嗅周皮質におけるアネキシン AII の発現・活性化が視覚性記憶に関与しているという積極的な実験結果を得ることはできなかった。使用した抗体の妥当性も含め、再検討を始めている。

(3) 嗅周皮質には視覚刺激の反復提示にともなって、ニューロン応答が減弱する「反復抑制」という現象が存在し、「見たことがあるか否か」という「記憶」の生理学的な基盤になっている。この生体内における「反復抑制」は、嗅周皮質の培養組織切片上で引き起こされる LTD (long term depression; 長期抑制。対象となる神経回路を特定の頻度で刺

激すると、その後しばらく神経細胞間の伝達が起こりにくくなる現象)と密接な関係がある。嗅周皮質を用いた培養組織切片上での LTD は、ムスカリン性アセチルコリン (mACh) 受容体の賦活薬投与によって惹起される一方、mACh 受容体の遮断薬投与によって消失する。これらのことより、嗅周皮質が担う記憶機能には、mACh 受容体の賦活をきっかけとする可塑的なメカニズムが関与していると推測される。一般に、mACh 受容体は、G タンパク質共役型受容体であることが明らかにされており、mACh 受容体の賦活は、ホスホリパーゼ C (PLC) を活性化し、その結果イノシトール 1,4,5-3 リン酸 (IP3) が産出される。IP3 は、細胞内 Ca²⁺ ストアから Ca²⁺ を細胞質中に放出させ、放出された Ca²⁺ は、カルモジュリン、アネキシン AII、プロテインキナーゼ C (PKC) などに結合し、さらに下流へとシグナルを伝達していく。これらのことより、嗅周皮質ニューロンにおいて mACh 受容体を賦活した後に LTD が生じるためには、上記のような [PLC 活性化 IP3 産出 Ca²⁺ ストアからの Ca²⁺ 放出 カルモジュリンまたはアネキシン AII への Ca²⁺ の結合 さらに下流への影響] を含む細胞内シグナル伝達過程が必要であることが示唆されている。すでに PKC の関与は薄いことが明らかにされている。本研究の結果より、アネキシン AII の関与も薄い可能性が示唆されており、結果的にカルモジュリン依存性の情報伝達経路の重要性が強く示唆された。

<引用文献>

1. Sivaprakasam K: Towards a unifying hypothesis of Alzheimer's disease: cholinergic system linked to plaques, tangles and neuroinflammation. *Current medicinal chemistry*. 2006; 13(18): 2179-88.
2. Adlam AL, Bozeat S, Arnold R, Watson P, Hodges JR: Semantic knowledge in mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease. *Cortex*. 2006; 42(5): 675-84.
3. Davies RR, Graham KS, Xuereb JH, Williams GB, Hodges JR: The human perirhinal cortex and semantic memory. *The European journal of neuroscience*. 2004; 20(9): 2441-6.

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. Kazuya Yasuda, Hiroshi Abe, Go Koganemaru, Tetsuya Ikeda, Kazuhiko Arimori, Yasushi Ishida: Pramipexole reduces parkinsonian tremor induced

by pilocarpine infusion in the rat striatum. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 113: 1-5, 2015. doi: 10.1016/j.pbb.2015.01.012. (査読有り)

2. Go Koganemaru, Hiroshi Abe, Aki Kuramashi, Kosuke Ebihara, Hisae Matsuo, Hideki Funahashi, Kazuya Yasuda, Tetsuya Ikeda, Toshikazu Nishimori, Yasushi Ishida: Effects of cabergoline and rotigotine on tacrine-induced tremulous jaw movements in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 126: 103-108, 2014. doi: 10.1016/j.pbb.2014.09.015. (査読有り)

[学会発表](計3件)

1. Funahashi H, Naono-Nakayama R, Abe H, Ebihara K, Nishimori T, Ishida Y: Hemokinin-1 mediates pruriceptive processing in the rat spinal cord. 44th Annual Meeting Society for Neuroscience, Washington D.C., Nov. 15-19 (2014)
2. Matsuo H, Nishimori T, Abe H, Kuramashi A, Koganemaru G, Funahashi H, Ebihara K, Ikeda T, Ishida Y: Effect of an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist in animal models of schizophrenia: An immunohistochemical study in the rat. 44th Annual Meeting Society for Neuroscience, Washington D.C., Nov. 15-19 (2014)
3. Koganemaru G, Abe H, Kuramashi A, Ebihara K, Matsuo H, Funahashi H, Yasuda K, Ikeda T, Takeda R, Nishimori T, Ishida Y: Effects of dopamine agonist, cabergoline on the tremulous jaw movements produced by the acetylcholinesterase inhibitor, tacrine, and their related patterns of c-Fos expression in the striatum. 11th World Congress of Biological Psychiatry, Kyoto, Japan, June 23-27 (2013)

[図書](計1件)

1. Hiroshi Abe, Noriko Hidaka, Chika Kawagoe, Kei Odagiri, Tetsuya Ikeda, Toshikazu Nishimori, and Yasushi Ishida: Influence of Prenatal Stress on Psychiatric Disorders and Involvement of Neurogenesis in the

Etiology. Chapter 3 in "Neurogenesis: Cell Biology, Regulation and Role in Disease" Edited by Alicia Moreno, Nova Science Pub. Inc. (2015/11/5), ISBN: 9781634836876.

〔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.hoku-iryo-u.ac.jp/~abehiro>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安部 博史 (ABE, Hiroshi)
北海道医療大学・心理科学部・准教授
研究者番号：20344848

(2) 研究分担者

池田 哲也 (IKEDA, Tetsuya)
宮崎大学・医学部・准教授
研究者番号：20264369

石田 康 (ISHIDA, Yasushi)
宮崎大学・医学部・教授
研究者番号：20212897

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

なし