

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25640018

研究課題名(和文) 摂食制限が記憶を亢進する分子メカニズムの解明と、その有用性の提唱

研究課題名(英文) Study of the molecular mechanisms in which mild fasting facilitates memory

研究代表者

平野 恭敬 (hirano, yu kinori)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：40580121

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)：私はこれまでに、ショウジョウバエをモデル生物として用い、摂食制限、およびそれに伴う転写因子CRTCの活性化が記憶形成を促進することを見出していた。これを発展させ、本研究では、CRTC依存的な摂食制限状態が記憶障害を改善できる可能性の提示、さらに、CRTC経路の活性化を介して記憶障害を改善させるような薬理標的の提案を目標とした。まず、cAMP経路の変化による記憶障害に、摂食制限、CRTC活性化の薬理処置が有用であることを見出した。また、複数の薬理標的の同定を試みたが、現在までにCRTC以外の薬理標的の同定に至っていない。

研究成果の概要(英文)：I have reported that fasting activates a transcription factor, CRTC and thereby facilitating memory in Drosophila. This study was focused on how this finding is applied to improve memory deficits. First, I tested whether well-known mutant flies with memory deficits can be improved by fasting and also by activation of CRTC. The memory of the mutants defective in the cAMP pathway was improved by both manipulations. This suggests that the cAMP-related disorder could be improved by activation of CRTC. Second, I sought to determine the molecular pathway inducing CRTC activation upon fasting. However, no candidate proteins affected fasting-dependent memory. Other proteins could regulate CRTC during fasting, which should be revealed in the future study.

研究分野：神経科学

キーワード：記憶 CRTC ショウジョウバエ CREB

1. 研究開始当初の背景

学習により獲得した情報は、CREB 依存的な新規遺伝子発現を介して、長期記憶に固定化される²。私はこれまでに、ショウジョウバエの摂食を制限すると、CREB 依存的に長期記憶形成を促進することを見出した。さらにそのメカニズムの一端として、摂食制限時のインスリンシグナリングの低下が、ハエの記憶中枢であるキノコ体で、CREB 結合タンパクである CRTC を活性化させることを発見した。さらにキノコ体の CRTC 活性が摂食制限による記憶亢進に必要な十分であることを報告した。

2. 研究の目的

過去に学習記憶のメカニズムが研究され、その詳細なメカニズムが明らかにされつつある。しかしながら、先天的、および後天的記憶障害を改善する具体的な方法は、いまだ確立されていない。私はこれまでに、ショウジョウバエをモデル生物として用い、摂食制限が記憶形成を促進することを見出した。さらに、cAMP 応答性転写因子 CREB の結合タンパクである CRTC の活性化が、摂食制限による記憶亢進に必要な十分であることを発見し、報告した。これを発展させ、本研究では、CRTC 依存的な摂食制限状態が記憶障害を改善できる可能性の提示、さらに、CRTC 経路の活性化を介して記憶障害を改善させるような薬理標的の提案を目標とする。以上より、記憶改善に向けた応用記憶研究にブレークスルーをもたらすことが、本研究のねらいである。

3. 研究の方法

ショウジョウバエでは大規模スクリーニングにより、数多くの学習記憶変異体が同定されている。またショウジョウバエにおいて、ヒト精神遅滞の原因遺伝子である Fragile X のホモログにおける変異は、記憶障害を呈することが示されている⁷。これらの変異体を用いることで、先天的記憶障害が、摂食制限により改善されるか検証する。

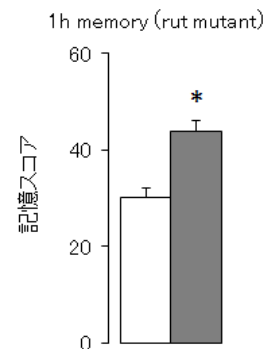
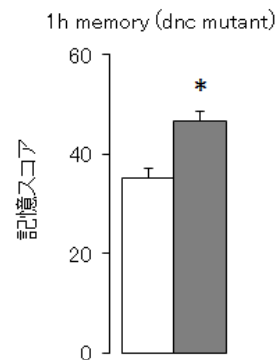
CRTC を抑制する上流因子を摂食制限時に活性化させれば、CRTC が抑制され、摂食制限による長期記憶の亢進は阻害されるはずである。ショウジョウバエでは、AKT、SIK2、SIK3 すべての恒常活性化型変異遺伝子が報告されている。GAL4-UAS システムを用いて、これらの恒常活性化型キナーゼを一過的に発現させ、野生型での摂食制限による長期記憶の亢進が阻害されるか検証する。長期記憶亢進の阻害が CRTC のリン酸化を介することを確認するため、恒常活性化型キナーゼとともに恒常活性化型 CRTC を発現させる。恒常活性化型 CRTC は、CRTC のリン酸化サイトの置換変異である。もし恒常活性化型 AKT、SIK3 が CRTC のリン酸化を介して記憶亢進を阻害

するならば、恒常活性化型 CRTC を発現させれば、記憶亢進の阻害は見られなくなるはずである。これらをもって、記憶亢進に關与する CRTC の上流キナーゼを同定する。

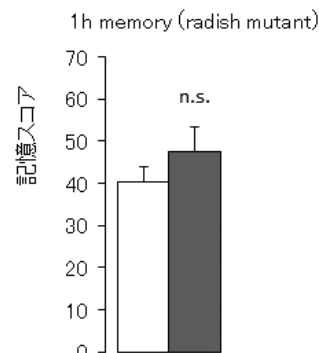
4. 研究成果

(1) 先天的、および後天的記憶障害の改善における、摂食制限の有効性。
摂食制限が記憶障害変異体を改善するか検証したところ、cAMP 合成に関わる *dnc*、*rut* 変異体の記憶障害が改善されることがわかった。cAMP 経路の変化による記憶障害には、摂食制限、CRTC 活性化の薬理処置が有用であると考えられる。

白：満腹 灰色：摂食制限

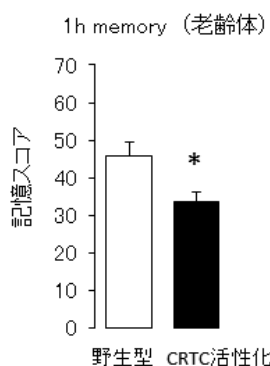
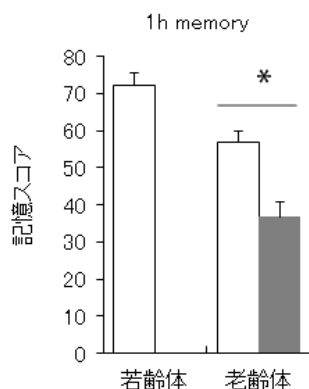


一方、その他の記憶障害モデルとなる変異体 (例として *radish mutant*) の記憶障害を改善しないことがわかった。これら変異に関しては、CRTC が記憶亢進する機序に強く関係するために摂食制限による記憶亢進がみられなかったと考えられる。



また上記のように、摂食制限、および CRTC の活性化は若齢体の記憶を亢進する一方、ハエの加齢性記憶障害を悪化させることがわかった。

白：満腹 灰色：摂食制限



摂食制限による加齢に伴う記憶障害の可能性は否定された結果となったが、老化と記憶障害を変化させる体内環境と脳内変化に迫るきっかけとなることを期待している。

(2)CRTC の記憶亢進における上流因子、および CRTC 上流因子の操作による記憶亢進。インスリンシグナリングと CRTC を仲介する因子として、AKT、SIK3 を含む複数のキナーゼが示唆されている。これらが記憶亢進における CRTC の上流因子であるか、遺伝学的に検証した。

1つ目に、各キナーゼの恒常活性化型変異遺伝子の導入が、摂食制限による記憶亢進に影響するかを調べた。GAL4-UAS システムを用いて、これらの恒常活性化型キナーゼを一過的に発現させ、野生型での摂食制限による長期記憶の亢進が阻害されるか検証したところ、どのキナーゼの恒常活性化型を導入しても摂食制限による記憶亢進は影響を受けなかった。

2つ目に各キナーゼのノックダウンを行い、同様に摂食制限による記憶亢進に影響する

か検討した。上記と同様、GAL4-UAS システムを用いて、該当キナーゼのノックダウンを行う遺伝的操作を行った。しかしながら、これまでに摂食制限による記憶亢進を模倣するようなキナーゼの同定には至っていない。

今後、CRTC を制御するキナーゼを同定するため、網羅的 RNAi システムを用いたスクリーニングを行うことを検討する。候補として、摂食制限に应答する MAP キナーゼ、神経の活動により活性化される PKA、CaMK ファミリーキナーゼを考えている。これらから CRTC を制御するキナーゼを見出せば、記憶亢進に向けた新たな創薬標的を提案することができる。

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)

平野恭敬、齊藤実

Hunger-driven modulation in brain functions.

Brain Nerve. 2014;66, 41-48.

平野恭敬、齊藤実

Hunger and memory; CRTC coordinates long-term memory with the physiological state, hunger.

Commun Integr Biol. 2013;6(5):e25152.

〔学会発表〕(計 4 件)

招待講演

「エピジェネティクス解析から長期記憶分子メカニズムに迫る」

平野恭敬

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

生理学研究所 2014 年 10 月 8 日

招待講演

「Decoding epigenetics related to distinct phases of long-term memory in Drosophila.」

平野恭敬

第 37 回日本神経科学大会 シンポジウム 神経発生・発達におけるクロマチン制御 (epigenetic 制御) の役割 2014 年 9 月 12 日

招待講演

「長期記憶に関わる遺伝子発現制御; ショウジョウバエから学べること」

平野恭敬

SK (Shionogi-Kyoto University) プロジェクトシンポジウム (塩野義製薬) 2013 年 10 月 31 日

招待講演

「高次脳機能を支えるエピジェネティクス；ショウジョウバエから学べること」

平野恭敬

JST・NEDO 公開シンポジウム 2013 年 4 月
19 日

〔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：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.sk.med.kyoto-u.ac.jp/hirano/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

平野恭敬 (HIRANO, Yukinori)

京都大学医学研究科・准教授

研究者番号：40580121

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：