

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：23803

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460172

研究課題名(和文) 緑茶テアニンによる記憶向上から見た海馬依存性長期記憶の基盤メカニズム解析

研究課題名(英文) Analysis on mechanism of hippocampus-dependent long-term memory via theanine-mediated enhancement of memory

研究代表者

玉野 春南 (Tamano, Haruna)

静岡県立大学・薬学部・特任講師

研究者番号：30322697

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)：緑茶成分のテアニン摂取は、海馬歯状回の長期記憶と関係する神経新生を促進し、記憶の細胞レベルの分子基盤とされる長期増強(LTP)を増大させることを見出した。テアニン摂取による海馬依存性の記憶向上にはnon-NMDA受容体依存性のLTPの関与があり、海馬依存性長期記憶にはLTPの維持を基盤とすることが示された。一方で、記憶の獲得のみならず獲得した記憶の保持にも海馬神経細胞において細胞内Zn²⁺シグナリングが必要であることを明らかにした。さらに、細胞外Ca²⁺ではなく、細胞外Zn²⁺が過剰に流入すると、記憶獲得の障害だけでなく、保持されていた記憶もLTPの維持障害を介して消失することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The present study demonstrated that intake of theanine, a major component of amino acids in green tea, enhances hippocampal neurogenesis, which is related to long-term memory, followed by enhancement of hippocampal long-term potentiation (LTP), a cellular mechanism of memory. On the other hand, the present study revealed that intracellular zinc signaling in the glutamatergic synapses in the hippocampus is necessary for not only memory acquisition but also memory retention via LTP induction and its maintenance. And, the present study indicates that increase in Zn²⁺ influx into dentate granule cells through AMPA receptors, a subtype of glutamate receptor, loses maintained LTP and memory. Regulation of Zn²⁺ influx into dentate granule cells is more critical for not only memory acquisition but also memory retention than that of Ca²⁺ influx.

研究分野：神経科学

キーワード：記憶 LTP 亜鉛 海馬

1. 研究開始当初の背景

海馬は学習・記憶を担う領域として知られている。記憶情報は、海馬依存的に一定期間保存され、その後大脳皮質に移行して保存されると考えられている。海馬での情報処理は、グルタミン酸作動性三シナプスで行われる。記憶の分子基盤と考えられている長期増強 (long-term potentiation, LTP) などのシナプス可塑性は海馬で盛んに研究され、LTP 発現は、主にグルタミン酸受容体のサブタイプである N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体活性化を介し記憶獲得に必要な現象であると信じられている。記憶獲得に LTP が関与するとの知見は海馬スライス実験によるものが大半であり、個体レベルでの海馬依存性記憶維持における三シナプスでの LTP 維持の生理的意義の解明は課題として残されている。

申請者らは緑茶テアニン (γ -glutamylethylamine) をラットに与えると NMDA 受容体に依存しない LTP が誘導されること、また、このテアニン摂取ラットに水浸ストレスを負荷すると、コントロールラットとは異なり、LTP が障害されず物体認識記憶障害が回避されることをこれまでに報告している。さらに、テアニン摂取ラットでは、学習後の記憶が長期に維持されたことから、記憶維持の基盤に NMDA 受容体に依存しない LTP が関与する可能性を示してきた。すなわち、non-NMDA 受容体を介した LTP は、ストレスに影響されにくいことが知られているが、記憶の獲得・維持に対する役割は十分に明らかにされていない。

2. 研究の目的

記憶獲得の細胞レベルでのメカニズムは LTP などのシナプス可塑性であると信じられている。しかし、海馬依存的な記憶の維持・想起のメカニズムは明らかにされていない。本研究では、海馬依存的な記憶維持には、記憶と関係すると一般的に考えられている NMDA 受容体依存性の LTP では不十分であり、non-NMDA 受容体を介した LTP が基盤的役割を担うことをはじめて実証する。

3. 研究の方法

ラット海馬の歯状回、CA1 領域に独自に作製した記録電極付きインジェクションカニューレ (内径 0.15 mm、外径 0.35 mm) を用いて NMDA 受容体、細胞内カルシウムシグナル系に対する薬物などをインジェクションカニューレを介して記録部位に局所投与し、インビボリアルタイム解析法でこれら海馬領域において NMDA 受容体依存性 LTP と non-NMDA 受容体依存性 LTP の海馬依存性記憶維持との関係を解析する。

4. 研究成果

テアニン摂取ラットの歯状回 LTP は、テアニンを含まない水を与えたコントロールラ

ットに比べて大きく誘導された。また、コントロールラットの物体認識記憶は2日後に消失したが、テアニン摂取ラットでは2日後でも学習した物体を覚えていた。海馬組織の神経栄養因子 NGF および脳由来神経栄養因子 BDNF のタンパク発現量はテアニン摂取により増加した。これらの結果から、テアニン摂取により物体認識記憶能が向上することが示された。この向上には、海馬歯状回 LTP の増強ならびに NGF や BDNF のタンパク質発現量が関与するものと考えられる。緑茶テアニン摂取による海馬依存性の記憶向上 (記憶保持時間の増加) には non-NMDA 受容体依存性の LTP の関与があり、海馬依存性長期記憶には LTP (おそらく non-NMDA 受容体依存性 LTP) の維持を基盤とすることが示された。

また、海馬 LTP 発現には、細胞内 Zn^{2+} シグナリングが必要である。記憶を司る海馬では CA3 領域の苔状線維と CA1 領域シャーフア側枝からグルタミン酸と共に放出される Zn^{2+} が、CA3 および CA1 の錐体細胞に取り込まれシグナル因子として機能する。貫通線維からは Zn^{2+} が放出されないため、シナプスを形成する歯状回顆粒細胞の細胞内ストアから放出される Zn^{2+} がシグナル因子となる。すなわち、細胞内 Zn^{2+} シグナリングは *in vivo* での LTP の誘導と維持を介し、それぞれ記憶の獲得ならびに保持に必要なことを明らかにした。その一方で、海馬神経細胞が過剰興奮すると、細胞外 Zn^{2+} は CA1 錐体細胞に過剰流入し、CA1 LTP 誘導と物体認識記憶を可逆的に障害する。さらに、神経終末から Zn^{2+} が放出されない貫通線維-歯状回顆粒細胞シナプスでも、シナプス興奮により細胞外に存在する Zn^{2+} が顆粒細胞に過剰流入すると LTP 誘導が障害され、物体認識記憶が一過性に障害することをあきらかにした。すなわち、シナプス Zn^{2+} シグナリングは海馬依存性の長期記憶に必要な一方、シナプス Zn^{2+} ホメオスタシスの変化が記憶障害の一因となることを明らかにした。さらに、海馬神経細胞において細胞外 Ca^{2+} ではなく、細胞外 Zn^{2+} が過剰に流入すると、記憶獲得が障害されるだけでなく、保持されていた記憶も LTP の維持障害を介して消失することを明らかにした。

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 18 件)

1. Atsushi Takeda, Haruna Tamano, Marie Hiasatsune, Taku Murakami, Hiroyuki Nakada, Hiroaki Fujii: Maintained LTP and memory are lost by Zn^{2+} influx into dentate granule cells, but not Ca^{2+} influx. **Mol Neurobiol.** *in press.*
2. Atsushi Takeda and Haruna Tamano: Significance of low nanomolar concentration of

- Zn²⁺ in artificial cerebrospinal fluid. **Mol. Neurobiol.**, 54, 2477-2482, (2017).
3. Haruna Tamano, Yuta Koike, Hiroyuki Nakada, Yukina Shakushi, and Atsushi Takeda: Significance of synaptic Zn²⁺ signaling in zincergic and non-zincergic synapses in the hippocampus in cognition. **J. Trace Elem. Med. Biol.**, 38, 93-98 (2016).
 4. Haruna Tamano, Kazuki Ide, Paul Anthony Adlard, Ashley Ian Bush, and Atsushi Takeda: Involvement of hippocampal excitability in amyloid β -induced behavioral and psychological symptoms of dementia. **J. Toxicol. Sci.**, 41, 449-457 (2016).
 5. Haruna Tamano, Yusuke Enya, Kazuki Ide, Atsushi Takeda: Influences of Yokukansankachimpinange on aggressive behavior of zinc-deficient mice and actions of the ingredients on excessive neural exocytosis in the hippocampus of zinc-deficient rats. **Exp Anim**, 65, 353-361 (2016).
 6. Haruna Tamano and Atsushi Takeda: Is interaction of amyloid β -peptides with metals involved in cognitive activity? **Metalomics**, 7, 1205-1212 (2015).
 7. Miki Suzuki, Yuki Fujise, Yuka Tsuchiya, Haruna Tamano, Atsushi Takeda: Excess influx of Zn²⁺ into dentate granule cells affects object recognition memory via attenuated LTP. **Neurochem. Int.**, 87, 60-65 (2015).
 8. Atsushi Takeda, Miki Suzuki, Munekazu Tempaku, Kazumi Ohashi, Haruna Tamano: Influx of extracellular Zn²⁺ into the hippocampal CA1 neurons is required for cognitive performance via long-term potentiation. **Neuroscience**, 304, 209-216 (2015).
 9. Atsushi Takeda, Yukina Shakushi, Haruna Tamano: Modification of hippocampal excitability in brain slices pretreated with a low nanomolar concentration of Zn²⁺. **J Neurosci. Res.**, 93, 1641-1647 (2015).
 10. Haruna Tamano, Tatsuya Minamino, Hiroaki Fujii, Shunsuke Takada, Masaki Ando, Atsushi Takeda: Blockade of intracellular Zn²⁺ signaling in the dentate gyrus erases recognition memory via impairment of maintained LTP. **Hippocampus**, 25, 952-962 (2015).
 11. Atsushi Takeda and Haruna Tamano: Significance of the degree of synaptic Zn²⁺ signaling in cognition. **Biomaterials**, 29, 177-185 (2016).
 12. Haruna Tamano, Yukina Shakushi, Mitsugu Watanabe, Kazumi Ohashi, Chiharu Uematsu, Tadamune Otsubo, Kiyoshi Ikeda, Atsushi Takeda: Preventive effect of 3,5-dihydroxy-4-methoxybenzyl alcohol (DHMBA) and zinc, components of the pacific oyster crassostrea gigas, on glutamatergic neuron activity in the hippocampus. **Biol. Bull.**, 229, 282-288 (2015).
 13. Haruna Tamano, Kotaro Fukura, Miki Suzuki, Kazuhiro Sakamoto, Hidehiko Yokogoshi, Atsushi Takeda: Advantageous effect of theanine intake on cognition. **Nutritional Neurosci.**, 17, 279-83 (2014).
 14. Atsushi Takeda, Haruna Tamano, Taisuke Ogawa, Shunsuke Takada, Masatoshi Nakamura, Hiroaki Fujii and Masaki Ando: Intracellular Zn²⁺ signaling in the dentate gyrus is required for object recognition memory. **Hippocampus**, 24, 1404-1412 (2014).
 15. Atsushi Takeda, Masatoshi Nakamura, Hiroaki Fujii, Chiharu Uematsu, Tatsuya Minamino, Paul Anthony Adlard, Ashley Ian Bush, Haruna Tamano: Amyloid β -mediated Zn²⁺ influx into dentate granule cells transiently induces a short-term cognitive deficit. **PLoS One**, 9, e115923 (2014).
 16. Atsushi Takeda and Haruna Tamano: Cognitive decline due to excess synaptic Zn²⁺ signaling in the hippocampus. **Frontiers in Aging Neuroscience**, 6, 26 (2014).
 17. Atsushi Takeda, Hiroaki Fujii, Tatsuya Minamino and Haruna Tamano: Intracellular Zn²⁺ signaling in cognition. **J. Neurosci. Res.**, 92, 819-24 (2014).
 18. Atsushi Takeda and Haruna Tamano: Regulation of extracellular Zn²⁺ homeostasis in the hippocampus as a therapeutic target for Alzheimer's disease. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, 19, 1051-1058 (2015).
- [学会発表](計12件)
1. Haruna Tamano, Yukina Shakushi, Atsushi Takeda: in vitro and in vivo physiology of low nanomolar concentrations of Zn²⁺ in artificial cerebrospinal fluid. Australasian Neuroscience Society 36th Annual Scientific Meeting 2016 (Hobart, Australia) December 5, 2016.
 2. Haruna Tamano: Suppressive effect of 3,5-dihydroxy-4-methoxybenzyl alcohol and zinc, components of the Pacific oyster, on glutamatergic neuron activity in the hippocampus: a new insight of Zn²⁺ into physiological significance. The 3rd

- International Conference on Pharma and Food (Shizuoka) 2016 年 11 月 17 日.
3. 玉野春南, 釋氏佑紀奈, 武田厚司: 低ナノモル濃度の細胞外亜鉛イオンによる海馬グルタミン酸作動性神経活動の抑制, 日本薬学会東海支部合同学術大会 2016 (岐阜), 2016 年 10 月 30 日.
 4. Haruna Tamano, Miku Sasaki, Shoko Satoh, Atsushi Takeda: Involvement of extracellular Zn²⁺ in LTP impairment induced with low nanomolar amyloid beta in the dentate gyrus. The 39th Annual Meeting of the Japanese Neuroscience Society (横浜), 2016 年 7 月 21 日.
 5. Haruna Tamano: Extracellular Zn²⁺ is involved in amyloid-beta-mediated impairments in long-term potentiation and cognition. International Society for Trace Element Research 2015 (Croatia), October 22, 2015.
 6. 玉野春南, 岩城はるか, 安藤正樹, 武田厚司: 抑肝散によるストレス誘発性の視床下部-下垂体-副腎系機能障害ならびに海馬機能障害の改善, 日本薬学会第 136 年会 (横浜) 2016 年 3 月 29 日.
 7. 玉野春南, 福羅光太郎, 鈴木美希, 坂本洋和, 横越英彦, 武田厚司: テアニン摂取による海馬の記憶メカニズムの変化-ストレス性記憶障害の予防効果と記憶能の向上効果-, 茶学術研究会 30 周年記念大会講演会 (静岡) 2016 年 3 月 14 日.
 8. Haruna Tamano, Yusuke Enya, Kazuki Ide, Atsushi Takeda: Ameliorative effects of gessoschizine methyl ether and beta-glycyrrhetinic acid, components of Yokukansankachimpihange (YKH), a Kampo medicine, on abnormal glutamate exocytosis in the hippocampus. The 38th Annual Meeting of the Japanese Neuroscience Society (神戸), 2015 年 7 月 28 日.
 9. Haruna Tamano, Masatoshi Nakamura, Hiroaki Fujii, Chihiro Uematsu, Atsushi Takeda: Involvement of extracellular Zn²⁺ in beta-amyloid mediated cognitive decline. 第 25 回金属の関与する生体関連反応シンポジウム (長崎) 2015 年 5 月 31 日.
 10. Haruna Tamano and Atsushi Takeda: Bidirectional action of synaptic Zn²⁺ signaling via amyloid beta in memory acquisition. International Society for

Zinc Biology 2014 (Asilomar, CA, USA). September 17, 2014.

11. Haruna Tamano and Atsushi Takeda: Intracellular Zn²⁺ signaling in the hippocampal dentate gyrus is required for object recognition memory. 11th Japan-China international Symposium on Health Science (Shizuoka, Japan). November 5, 2014.
12. 玉野春南: ジンクシグナリング: 脳腫瘍画像化から記憶形成. 第 4 回メタロミクス研究フォーラム (西東京) 2014 年 11 月 8 日.

ホームページ等

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

玉野 春南 (Tamano Haruna)

静岡県立大学・薬学部・特任講師

研究者番号 : 30322697