

Forgetting in *C.elegans* is Accelerated by Neuronal Communication via the TIR-1/JNK-1 Pathway

井上, 明俊

<https://doi.org/10.15017/1398275>

出版情報：九州大学, 2013, 博士（理学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：全文ファイル公表済

氏 名：井上 明俊

論文題目：Forgetting in *C. elegans* is Accelerated by Neuronal Communication via the TIR-1/JNK-1 Pathway

(線虫 *C. elegans* において記憶の忘却は TIR-1/JNK-1 経路を介した神経間シグナル分泌により促進される)

区 分：甲

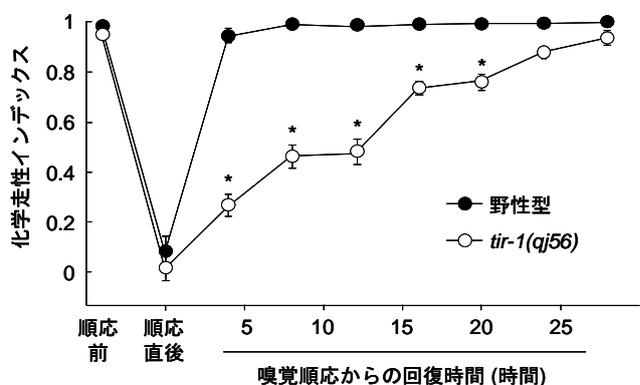
論 文 内 容 の 要 旨

動物が環境から獲得した膨大な情報を処理するにあたり、重要な記憶が保持される一方で、不必要な記憶が忘却されることは重要である。これまで、記憶の獲得や保持に関して多くの研究が進められ様々な知見が得られてきた。一方、忘却に関する研究は少なく、その制御メカニズムは分子レベル、神経回路レベルも含めてほとんど明らかにされていない。私は、分子、神経回路、行動を結び付けて解析することができるモデル生物である線虫を用いて忘却の制御メカニズムを解析した。線虫の神経回路は 302 個の神経細胞から成り立っており、個々の神経間のつながりが全て明らかにされている。また、嗅覚順応、連合学習といった様々な行動可塑性が報告されており、これらの記憶は数十分から数時間と短く、短期記憶の忘却を解析するうえで優れたモデル系である。そこで、短期記憶が長く保持される変異体をスクリーニングすることによって、記憶の忘却を制御する新規因子や制御メカニズムを明らかにすることができる考えた。

線虫は匂い物質ジアセチルに高い走性を示すが、ジアセチル溶液に 1 時間曝されると嗅覚順応が起こりジアセチルへの走性が低下する。この記憶は、野生型の線虫においては 4 時間以内に失われる。そこで、線虫に突然変異を誘起して、4 時間経過しても記憶が元に戻らない変異体のスクリーニングを行い、嗅覚順応が野生型よりも長く保持される変異体 *qj56* を単離した。*qj56* 変異体はジアセチルへの走性、嗅覚順応は正常であるが、嗅覚順応が 24 時間以上保持される表現型を示した (図 1)。

この変異体の原因遺伝子をポジショナルクローニングにより解析したところ、*qj56* は *tir-1* 遺伝子の欠失変異体であることが明らかになった。TIR-1 タンパク質は TIR ドメインを持つアダプタータンパク質であり、哺乳類の神経系で発現している SARM タンパク質と相同性がある。記憶の忘却に関わる TIR-1 の下流で働くシグナル経路を遺伝学的に解析したところ、TIR-1 は JNK-1 経路を介して記憶の忘却を促進することが明らかになった。また、*tir-1* の機能獲得型変異体において嗅覚順応が起きにくい表現型が観察されたが、これは TIR-1/JNK-1 シグナル経路の過剰な活性により忘却が早く起こるためであると考えられる。さらに、TIR-1/JNK-1 経路の変異体において、ヒートショックプロモーターを用いた時期特異的な表現型回復実験を行ったところ、成虫の神経系において野生型遺伝子を発現させることにより表現型が回復することが明らかになった。これらのことから、TIR-1/JNK-1 経路は成熟した神経系において忘却を促進している事が示唆された。

図1. ジアセチルへの嗅覚順応からの回復の経時変化



匂い物質ジアセチルは AWA 感覚ニューロンで受容され Ca^{2+} 応答を引き起こす。嗅覚順応が起こると、ジアセチル刺激による Ca^{2+} 応答が低下する事から、ジアセチルへの嗅覚順応は AWA 感覚ニューロンの応答の変化により起こることが示唆されている。そこで、記憶の忘却時において TIR-1/JNK-1 経路が働くニューロンを同定するために変異体における細胞特異的な表現型回復実験を行った。その

結果、嗅覚順応が起きている AWA 感覚ニューロンで野生型遺伝子産物を発現させても表現型は回復しないが、AWC 感覚ニューロンに発現させることによって、忘却が遅くなる表現型が回復することが明らかになった。そこで、AWC 感覚ニューロンの嗅覚順応の忘却における役割を明らかにするために、AWC 感覚ニューロンの分化異常の変異体や、人為的に AWC 感覚ニューロンの機能を阻害した線虫を解析した。これらの変異体において、ジアセチルの走性、嗅覚順応は野生型と同様であるが、TIR-1/JNK-1 経路の変異体と同様に記憶が長く保持されることが明らかになった。このことから、AWC 感覚ニューロンはジアセチルに対する嗅覚順応の忘却のみを制御するニューロンであることが示唆された。さらに、AWC 感覚ニューロンがどのように忘却を制御するのかを解析するために、AWC 感覚ニューロン特異的にテタヌストキシンを発現させてシグナル分泌を抑制したところ、記憶が長く保持されることが明らかになった。逆に、*tir-1* 変異体に AWC 感覚ニューロン特異的に PKC-1(gf) を発現させてシナプス放出を活発化させると記憶が長く保持される表現型が回復する。これらのことから、AWC 感覚ニューロンは AWA 感覚ニューロンに対して直接、もしくは間接的に嗅覚順応を忘れさせるようなシグナルを送ることにより忘却を促進していることが示唆された (図2)。

最後に TIR-1/JNK-1 経路がより高次の学習の記憶の忘却にも関わるのかを明らかにするために、塩走性学習の忘却を解析した。塩走性学習は、飢餓状態で NaCl 溶液に曝されることで NaCl への走性が誘引から忌避に変化する現象であり、NaCl と飢餓とを関連付けて覚える連合学習と考えられる。塩走性学習の記憶の忘却について解析したところ、野生型では 30 分ほどで失われる記憶が、*tir-1* 変異体では 60 分程保持されることが明らかになった (図3)。また、細胞特異的な表現型回復実験を行ったところ、塩走性学習の記憶の忘却には AWC 感覚ニューロンは関わらず、複数対のニューロンで発現を誘導するプロモーターを用いた野生型遺伝子産物の発現により表現型が回復することが明らかになった。しかし、その一つ一つのニューロンでの発現では表現型が回復しないことから、TIR-1/JNK-1 経路は複数のニューロンにおいて塩走性学習の忘却を制御していることが示唆された。また、これらのニューロンは塩走性学習の獲得、保持には関わらないことから、塩走性学習もまた神経間分泌により制御されている可能性が考えられた。

本研究において、私は嗅覚順応の忘却を制御するニューロン、そこで働くシグナル経路を発見するとともに、忘却が神経間シグナル分泌により積極的に促進されていることを明らかにした。今後、忘却シグナルやそのターゲット因子を解明することにより、線虫において忘却がどのように制御されているのか分子、神経回路で明らかになると期待される。また、本研究はより高等な生物の記憶の保持、忘却がどのように制御されているかをしる足がかりになると考えている。

図2. 嗅覚順応の忘却の制御

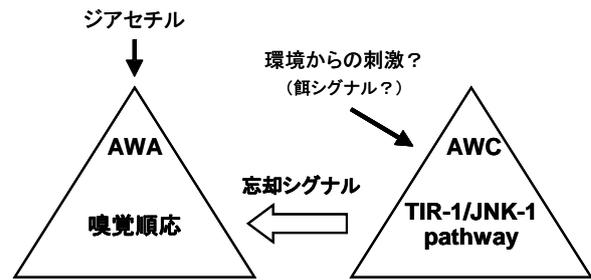


図3. 塩走性学習からの回復の経時変化

