

研究課題別評価

1 研究課題名:加齢に伴う学習・記憶低下の遺伝子プログラム

2 研究者氏名:齊藤 実

研究員:堀内 純二郎(研究期間:H14.4.15～H16.11.30)

松野 元美(研究期間:H14.9.1～H16.7.31)

本多 敦子(研究期間:H14.10.1～H15.3.31)

3 研究の狙い:

加齢に伴う学習・記憶能力の低下は全てのヒトに起こる現象である。加齢性記憶障害(Age-related Memory Impairment = AMI)と相関して脳神経系の生理学的機能の変化や・解剖学的変化が、老齢マウス・ラットを中心とした哺乳類モデルで報告されている。高齢化社会を迎えようとしている現在、どのような分子メカニズムが加齢性記憶障害に関与しているかを明らかにすることは、AMI の改善・予防策を立てる上での分子標的を設定するためにも大変重要である。また、AMI は老化と密接に関連した現象であるが、老化のメカニズムとどのような重複、乖離があるかも、AMI の分子メカニズムが解析されなければ明らかとはならない。これまでの哺乳類モデルでは年単位の寿命が障害となり、AMI の分子メカニズムを解明するための行動遺伝学的解析が非常に難しかった。ショウジョウバエは寿命が約 1 ヶ月と短く、哺乳類モデルと共通した学習記憶や老化の分子メカニズムを持つ。従ってショウジョウバエでも AMI が起こるのであれば、ショウジョウバエは哺乳類モデルに替わる AMI の分子メカニズム解析のモデル動物となり得る。本研究ではショウジョウバエの AMI を検証しモデル動物としての有効性を確立した上で、AMI の行動遺伝学的解析を行い、AMI がどのような記憶過程(記憶の分子メカニズム)の障害を反映したものなのか?また、老化と AMI とはどのような関わりを分子レベルで持っているのか?などを明らかにし、「AMI の分子メカニズム」という萌芽研究領域の確立を目指した。

4 研究成果:

(1)加齢性記憶障害(AMI)の分子遺伝学的解析

ショウジョウバエの学習記憶過程は匂いと電気ショックを組み合わせた匂い条件付けによる連合学習課題で詳細に解析されている。先ず寿命が約 1 ヶ月と短いショウジョウバエでも加齢性記憶障害が起こるのか?を調べるため、羽化後 1 日目から 50 日までのハエで、匂い条件付けによる記憶の保持曲線を調べ、比較した。その結果、20 日齢から、顕著な 1 時間記憶を中心とした記憶スコア(Performance Index)の低下がみられ、その記憶保持曲線は、中期記憶過程に障害を持つ *amnesiac (amn)* 変異体のもと極めて良く似ていることが分かった(図 1)。さらに 20 日齢のハエでは匂い条件付けに関連した匂い感受性や、電気ショックに対する忌避性が 1 日齢のハエと変わらなかった。これらのことからショウジョウバエも哺乳類モデル同様、加齢による記憶障害(AMI)が起こること、この記憶障害は *amn* 変異体の示す記憶障害と極めて良く似ていることが明らかになった。そこで、次に AMI を、*amn* 変異体を含む複数の学習記憶変体で調べたところ、図 2 に示すとおり、*amn* 変異体では他の変異体と異なり、もはや加齢による記憶低下はみられなかった。さらに *amn* 変異体では記憶保持曲線も加齢による顕著な変化を示さなかった。これまで AMI は神経細胞の変性・脱落などによる記憶過程の非特異的な障害と考えられてきた。しかし上記の結果から AMI は、*amn* 遺伝子依存性の中期記憶が特異的に障害されて起こることが示唆された。*amn* 遺伝子は神経ペプチドをコードし、その遺伝子産物は記憶に重要な脳部位のキノコ体に終末を投射する DPM 細胞で高い発現を示す。しかしながら DPM 細胞に加齢による目だった形態的变化は観察されなかった。また *amn* 遺伝子を DPM 細胞で過剰発現させても加齢性記憶障害の抑制は見られなかった。これらの結果から、*amn* 遺伝子産物の神経ペプチドを受容して起こるキノコ体

(MB) 内の中期記憶に関与する情報伝達系に AMI の原因があることが示唆された (Neuron, 2003)。

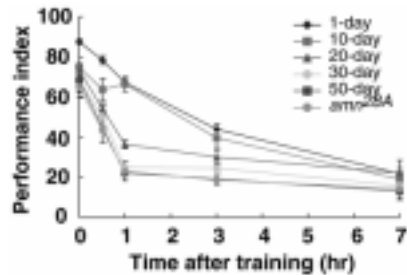


図 1 野生型加齢体の記憶保持曲線：
匂い条件付けの後、任意の時間で記憶テストを行い記憶保持曲線を各日齢の野生型で作成した。20日齢(20-day)から顕著なAMIが見られるようになり、*amn*変異体(*amn*)と極めてよく似た中期記憶の障害(1時間記憶の顕著な低下に注意)が記憶保持曲線に現れる

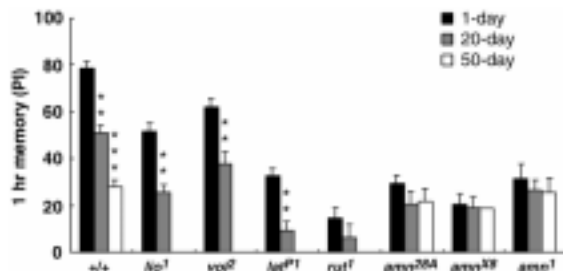


図 2 AMI の遺伝学的解析
野生型同様多くの学習記憶変異体では20日齢で顕著な1時間記憶の低下を示す。しかし、*amn*変異体では加齢により障害されるべき記憶成分が既になくAMIはもはや起こらない。短期記憶変異体*let*には中期記憶が存在しているためAMIが見られる。

(2) AMI 変異体の同定

上記のとおり AMI の原因がキノコ体での情報伝達系にあることが示唆されたので、MB に発現する遺伝子のランダムな変異体約 50 系統で AMI の抑制・促進変異体検索し、「若い学習記憶力」を加齢体となっても保持している(AMI が抑制されていた)変異体 2 系統を見出した。これらの系統で変異を起こしている遺伝子産物は MB で極めて高い発現を示していた。さらに興味深いことに、これらの変異体では有意な寿命の延長がみられなかった。このことは体の老化とは独立した加齢性記憶障害の分子メカニズムの存在を示唆している (投稿準備中)。

(3) 寿命と記憶の遺伝学的相関

若齢体で既に加齢体と同じ記憶障害を示す *amn* 変異体は老化が促進している可能性がある。このことを確かめるため、*amn* 変異体の寿命を調べたところ、全く意外なことに野生型コントロールと比べて約 40% もの寿命の延長が観察された。*amn* 遺伝子を DPM 細胞で発現させることにより、*amn* 変異体の記憶が回復するが、興味深いことに、記憶の回復と同時に寿命も野生型コントロールレベルにまで戻った。これらのことから記憶遺伝子 *amn* は記憶に関与する部位で、老化の制御にも関与していることが示唆された。*amn* 変異体は多くの長命変異体と異なり体型、体重の減少が見られない。*amn* 変異体と同じ身体的特徴を持つ長命変異体に G タンパク共役型受容体 (GPCR) の変異体 *methuselah* (*mth*) がある。そこで *mth* が *amn* 同様、老化と記憶に共役しているか否かを調べたところ、*amn* 変異体と同じ記憶成分(中期記憶)が障害されていることが分かった。*amn*、*mth* いずれも老化と記憶に共役して働き、*mth* も *amn* 同様中期記憶に障害があることが分かったので、*amn*、*mth* は重複するメカニズムにより寿命と記憶の制御に関与しているか、*amn*、*mth* 二重変異体で寿命と記憶を調べた。その結果、*amn* に対して *mth* が抑制因子として働き、二重変異体では寿命が野生型コントロールレベルにまで戻り、記憶も *amn* の大きな障害が部分的に回復した。これらのことから記憶と老化に共役して働く遺伝子シグナリングが存在し、*amn* と *mth* の両者がそのシグナリングに含まれていることが推測された (論文投稿中)。

5 自己評価:

ショウジョウバエを使って加齢性記憶障害の分子遺伝学的解析を行うという研究は、ハエでもヒ

トのような加齢性記憶障害が起こるかどうかさえ分からない状況からのスタートだった。しかし幸いにもさきがけの助成を3年にわたり受け、非常に思い切った研究を進めることが可能となり、加齢性記憶障害の分子メカニズムという未開拓の研究領域に先鞭を付けることが出来た。本研究により、加齢性記憶障害がこれまで考えられていたような、記憶過程全般の非特異的な障害でなく特定の記憶過程(記憶成分)の特異的な障害であることを明らかにし、続いて加齢性記憶障害の変異体を単離出来た。これらのことは、加齢性記憶障害が分子遺伝学的解析の対象となり得ることを示した点でも意義深いと感じている。また、本研究から加齢により障害される記憶成分に関与する遺伝子が、実は寿命の制御にも関わっているということも見出すことが出来た。こうした記憶と寿命の負の相関は、生殖行動と寿命、発育と寿命など「遺伝子の拮抗的多面発現」の新たな一例と捉えることが出来る。また、記憶遺伝子が関わる老化機構は、インスリンシグナリングなどの良く知られている老化機構とは異なることを示唆するデータも得られ、新たな老化機構の発見に繋がる可能性が出てきた。加齢性記憶障害は老化と密接に関連した現象であるが、加齢性記憶障害がどこまで老化のメカニズムにより支配され、どのような独自のメカニズムを持っているかなどは殆ど解析されていない。ショウジョウバエは老化や記憶の分子メカニズムに加えて、その二つの相関である加齢性記憶障害の分子メカニズムを解析する上でも優れたモデル動物であることが本研究により実証された。今後研究をさらに発展させることにより、加齢性記憶障害の分子メカニズムという萌芽研究領域を哺乳類モデルへ敷衍していきたい。

6 研究総括の見解:

新しい領域を拓きつつある研究として高く評価し得る。高齢化社会を迎えつつあるわが国にとっても重要な寄与を期待し得る。分子メカニズムの追求はこれからである。頑張ってもらいたい。ショウジョウバエでの成果を哺乳類に結び付けるには一段の工夫が必要であらう。その為にも、国内における他の老化(加齢)研究者との情報交換・連携に前向きでとり進んで欲しい。また、シグナルレベルでのメカニズムの追求に際しては、シグナル系路の単なる特定に止まらないよう配慮しつつ、研究を進めて欲しい。

7 主な論文等:

論文

1. Xia S, Miyashita T, Fu T-G, Lin W-Y, Wu C-L, Pyzocha L, Lin I-R, Saitoe M, Tully T, Chiang A-S. (2005).
NMDA receptors mediate olfactory learning and memory in *Drosophila*.
Current Biology (in press) (Saitoe, Tully and Chiang groups share senior authorship equally).
2. Saitoe M, Tamura T, Ito N, Horiuchi J (2005). *Drosophila* as a novel animal model for studying the genetics of age-related memory impairment. **Rev Neurosci** (in press)
Horiuchi J, Saitoe M (2005).
Can flies shed light on our own age-related memory impairment? **Ageing Res Rev** 4, 83-101.
Tamura T, Chang AS, Ito N, Liu HP, Horiuchi J, Tully T, Saitoe M. (2003) Aging specifically impairs *amnesiac*-dependent memory in *Drosophila*.
Neuron 40, 1003-1011.
2. Saitoe M, Schwarz TL, Umbach JA, Gundersen CB, Kidokoro Y. (2002).
Meaningless minis?
Trends Neurosci 25, 385-386
3. Saitoe M, Schwarz TL, Umbach JA, Gundersen CB, Kidokoro Y. (2001).
Absence of junctional glutamate receptor clusters in *Drosophila* mutants lacking spontaneous transmitter release.
Science 293, 514-517

4. 齊藤 実, 田村拓也, 堀内純二郎, 伊東直美 (2004).
ハエから探る老人痴呆:ショウジョウバエによる加齢性記憶障害と老化の分子メカニズムの解析
日本薬理学雑誌 24, 231-237
5. 齊藤 実 (2004).
ショウジョウバエによる学習記憶関連遺伝子の同定とそのシナプス機能の解析
ブレインサイエンスレビュー 2004, 109-123.
6. 齊藤 実 (2004).
加齢により障害される記憶過程とその遺伝子経路の同定
バイオインダストリー 21, 27-35.
7. 齊藤 実 (2002).
老年期記憶障害の分子メカニズムの探索
医学のあゆみ 202, 1053-1057.

特許

齊藤 実 (2003) 老人性記憶障害モデル非ヒト哺乳類及び非哺乳類動物
特願 2003-402319

招待講演(国内)

1. 齊藤 実 (2004)
ショウジョウバエによる加齢性記憶障害の分子機構の解析
平成 16 年度シナプス研究会 (岡崎生理研)
2. 齊藤 実 (2004)
加齢性記憶障害と寿命の分子メカニズムとその相関「老化研究:新たなパラダイムの形成を目指して」
第 27 回日本分子生物学会年会 (神戸ポートアイランド)
3. 齊藤 実 (2004)
ハエから探る老人痴呆: ショウジョウバエによる加齢性記憶障害と老化の分子メカニズムの解析
第 36 回脳の医学・生物学的研究会 (名古屋サマニアンホール)
4. 齊藤 実 (2004)
加齢による記憶障害の分子メカニズムの解析と新規老化経路の検索
冬の学術シンポジウム「寿命と老化研究のフロンティア」(東京セントラルプラザ飯田橋)
5. 齊藤 実 (2003)
学習記憶と加齢による記憶障害の分子メカニズム:ショウジョウバエによる分子遺伝学的研究
生理学若手サマースクール 2003 (東京医科歯科大学)
6. 齊藤 実, 城所良明 (2003)
自発開口放出が受容体集積過程に果たす役割の遺伝学的解析
第 80 回日本生理学会大会学術・研究委員会シンポジウム(福岡国際会議場)
7. 齊藤 実 (2002)
老人性記憶障害の発現と老化に関わる amnesiac 遺伝子経路
第 25 回神経研シンポジウム (東京安田生命ホール)
8. 齊藤 実, 城所良明 (2002)
自発開口放出が受容体集積過程に果たす役割の遺伝学的解析
第 25 回日本神経科学大会シンポジウム(東京ビッグサイト)

招待講演(国外)

- 1 . Horiuchi J, Saitoe M. (2004).
A novel interaction between memory and aging: the *amnesiac* mutation affects middle-term memory formation, age related memory impairment and lifespan.
Neural Physiology and Behavior, 45th Annual *Drosophila* Research Conference. (Washington DC)
- 2 . Saitoe M (2003).
Genetic dissection of age-related memory impairment in *Drosophila*.
The second Japan-Korea Drosophila symposium (Tokyo)
- 3 . Saitoe M, Tamura T (2001).
Impairment of olfactory memory during aging in *D. melanogaster*.
Neurobiology of Drosophila, Cold Spring Harbor Laboratory Meeting. (Cold Spring Harbor, NY)