トピックス

線虫の記憶

杉 拓磨 京都大学大学院工学研究科

1. はじめに

神経科学の分野で、50 年近く実証を得ていない「おばあちゃん細胞仮説」とよばれる有名な仮説がある¹⁾。おばあちゃん細胞仮説とは、祖母なら祖母を、父なら父を記憶するニューロンがそれぞれに存在するという仮説である。つまり、環境からの刺激それぞれに対応して、それを記憶するニューロンが個々に存在するという仮説である。

1990 年、カンデルらは転写因子 CREB を発見し、後にノーベル医学・生理学賞を受賞した²⁾。CREB は記憶成立の象徴的な分子であったため、発見以降、特定の刺激に対して CREB が機能するニューロン、つまり、特定の刺激を記憶するニューロンが見つかり、記憶の解明は収束に向かうことが期待された。ところが、そのようなニューロンの同定を、多くの神経科学者が試みているが、一部のニューロン³⁾を除き、ほとんどみつかっていない。その最大の理由は、多くのモデル動物の神経系は膨大な数のニューロンからなるため、個々のニューロンを 1 ニューロン単位で分離解析することが困難なためである。本稿では、1 ニューロン単位の分子解析が唯一可能な線虫 *C. elegans* をモデル系に、分子遺伝学的解析と *in vivo* イメージングにより発見された「温度記憶を担うニューロン」とその制御機構について紹介する。

2. CREB 依存的に温度記憶を担うニューロン AFD

C. elegans は、302 個のニューロンからなる神経系を利用し、温度や振動を記憶する。たとえば、23°C で飼育されると、飼育温度を記憶するので、温度勾配上に置かれた場合、1 時間後には、23°C 付近へと移動する (図 1a)⁴⁾。この温度走性行動を担う神経回路において、温度受容ニューロン AFD の神経活性の測定から、AFD は温度上昇に対し、過去に飼育された温度付近で反応することが示されていた⁵⁾。この生理学的解析から、AFD は、過去の飼育温度を記憶する可能性が考えられた。そこで私たちは、分子レベルの解

析によりこの可能性を検証した。CREB の線虫オルソログ *crh-1* を欠失した変異体の温度走性行動を確認した結果、変異体は温度記憶異常を示していた (図 1b 左)。この変異体のそれぞれのニューロンに特異的に、*crh-1/creb* の cDNA を発現させ、個々の変異体の記憶異常の回復の有無を確認した結果、驚くべきことに、唯一、AFD に cDNA を発現させた場合にのみ、完全に回復した (図 1b 右)。この結果から、AFD は CREB の機能ニューロン、つまり、温度記憶をもつ唯一のニューロンであることが示された (図 1c)⁶⁾。最近、振動刺激の記憶においても、*crh-1/creb* が機能するニューロンの同定実験から、介在ニューロン AVA, AVD, AVE が振動記憶を担う可能性が示された⁷⁾。これらの研究は、*C. elegans* において、温度では AFD が、振動では AVA, AVD, AVE が「おばあちゃん細胞」であることを示していた。

3. 温度記憶を制御する温度受容システムの発見

23°C を記憶している *C. elegans* を 17°C で飼育すると、約 4 時間で、17°C の記憶を獲得し、温度勾配上で 17°C 付近へと移動するようになる⁴⁾。私たちは、17°C の記憶を獲得する前後で、マイクロアレイ解析を行った⁸⁾。温度記憶形成過程で、有意な発現変化が見られた 79 個の遺伝子を精査した結果、一過性のヒートショックに反応して発現変化する *hsp* 遺伝子が複数含まれていた。このことから、*hsp* 遺伝子の上流でその発現を調節する転写因子ヒートショックファクター 1 (HSF-1) に着目した。リアルタイム PCR やレポーター GFP の観察から、予想通り HSF-1 は飼育温度域内の温度変化を感知することが示された。そこで HSF-1 の機能低下型変異体の行動を確認したところ、飼育された温度に移動しない異常が見られた。次に、*hsf-1* の cDNA を細胞特異的に *hsf-1* 変異体に発現させ、個々の異常の回復を確認していった結果、興味深いことに、行動異常は、神経系だけでなく筋肉や腸に HSF-1 を発現させた場合にも回復した。このことは、HSF-1 が全身のさまざまな細胞で温度を感知することを示していた。

C. elegans Memory

Takuma SUGI

Department of Molecular Engineering, Graduate School of Engineering, Kyoto University

※図 1 は、電子ジャーナル (<http://www.jstage.jst.go.jp/browse/biophys/-char/ja/>) ではカラー版を掲載しています。

次に私たちは、カルシウムインディケーターである *cameleon* を用い、*hsf-1* 変異体のニューロンの活性のイメージングを行った。その結果、*hsf-1* 変異体では温度上昇に対する AFD の神経活性の大きさや反応温度域が異常であることが示された。このことから、HSF-1 による温度シグナルは細胞非自律的に AFD を制御することが示された (図 1c)。

4. エストロゲンによる AFD の温度記憶制御

数年前、エストロゲンの受容体をノックアウトしたマウスが、空間の位置記憶に異常を示すことが報告された¹⁰⁾。われわれは、先のマイクロアレイ解析において、HSF-1 の下流で発現変化した遺伝子の中に、エストロゲン合成にかかわる遺伝子が含まれていたことに着目し、*C. elegans* へのエストロゲンの投与実験を行った。その結果、エストロゲンは AFD に作用し、温度記憶を変化させる効果が見られた (図 1c)。さらに、エストロゲン受容体様タンパク質をコードする遺伝子 *nhr-69* を欠失した変異体と *hsf-1* 変異体を用い、*hsf-1* と *nhr-69* の遺伝学的な上下関係を調べた。その結果、

NHR-69 は AFD で機能し、HSF-1 の温度シグナルの受け手であることが示された。以上の結果から、図 1c のように、(i) 温度記憶過程で、*C. elegans* は、HSF-1 を介し、全身で周囲の温度を感じ、その感知はエストロゲンを介し、AFD の記憶を変化させ、さらに (ii) 温度の勾配がある土壌で、 $0.01^{\circ}\text{C}/\text{cm}$ の温度の違いを感知できる AFD を使い、獲得した記憶と照合しながら、目的温度に向かうと考えられた⁸⁾。これまで「記憶の際、環境刺激は感覚ニューロンの膜タンパク質により受容される」ということが知られていたが、新たに「感覚ニューロンとともに、非神経系の体細胞も転写因子 HSF-1 を介して温度受容し、記憶の変化を導く」という概念が示された。

5. おわりに

今回紹介した研究から、*C. elegans* ではじめて温度や振動といった特定の刺激を記憶するニューロンの存在とその記憶の制御機構が分子レベルで示された。記憶のメカニズムを明らかにするには、今後、記憶形成の際に、これらのニューロンではたらく分子機構を解明することが必要不可欠である。記憶の実体を担う分子を本質的にとらえることが期待される。

謝 辞

本稿で紹介した研究は、名古屋大学大学院理学研究科の森部恵教授および研究室の方々との共同成果です。現所属先の京都大学大学院工学研究科の白川昌宏教授と京都大学物質-細胞統合システム拠点の原田慶恵教授のご理解とご協力に感謝いたします。

文 献

- 1) Gross, C. G. (2002) *Neuroscientist* **8**, 512-518.
- 2) Kandel, E. R. (2001) *Science* **294**, 1030-1038.
- 3) Quiñero, R. *et al.* (2005) *Nature* **435**, 1102-1107.
- 4) Mori, I. *et al.* (2007) *Curr. Opin. Neurobiol.* **17**, 712-719.
- 5) Kimura, K. D. *et al.* (2004) *Curr. Biol.* **14**, 1291-1295.
- 6) Nishida, Y. *et al.* (2011) *EMBO Rep.* **11**, 855-862.
- 7) Timbers, T. A., Rawkin, C. H. (2011) *Behav. Neurosci.* **1255**, 560-566.
- 8) Sugi, T. *et al.* (2011) *Nat. Neurosci.* **14**, 984-992.
- 9) Akerfeldt, M. *et al.* (2010) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **11**, 545-555.
- 10) Liu, F. *et al.* (2008) *Nat. Neurosci.* **11**, 334-343.

杉 拓磨

杉 拓磨 (すぎ たくま)

京都大学大学院工学研究科・日本学術振興会特別研究員 PD

2007 年京都大学大学院生命科学研究科修了。同年から名古屋大学大学院理学研究科 CREST 研究員、11 年 4 月より現職。

研究内容: *C. elegans* の記憶をコードする核内リモデリングの解析

連絡先: 〒606-8501 京都市左京区吉田本町

iCeMS Complex2 101 号室

E-mail: sugi.takuma.32r@st.kyoto-u.ac.jp

図 1 (a) 温度走性行動。 (b) CREB の機能細胞の同定。温度勾配プレート上での白い点は線虫 1 個体を表す。 (c) HSF-1 による温度記憶制御