

論文の内容の要旨

論文題目

Neuronal leucine-rich repeat protein 4 functions in hippocampus-dependent long-lasting memory

(新規膜タンパク質 NLRR4 (Neuronal leucine-rich repeat 4) による永続的長期記憶形成メカニズムの解析)

氏名 板東高功

哺乳類において記憶は、短期記憶、長期記憶、永続的長期記憶に大別される。マウスにおいて、文脈学習により獲得された記憶は海馬依存的に短期記憶から長期記憶へと変換され、その後、大脳皮質へと送られ永続的長期記憶に変換されると考えられている。様々な変異マウスの解析から、海馬における長期増強の発現が短期および長期記憶の形成に関わっていることが明らかになってきている。最近になって、 α Calcium-Calmodulin dependent kinase II (α CaMKII) の変異マウスの解析から大脳皮質の長期増強が永続的長期記憶の形成に関わっていることが明らかになってきた。さらに薬理的解析から永続的長期記憶と大脳皮質の関係が明らかになってきている。しかしながら、永続的長期記憶の形成の分子メカニズムはほとんど未知のままである。

Neuronal leucine-rich repeat 4 (NLRR4) は、申請者が同定した新規の I 型の膜タンパク質であり、海馬および皮質 V, VI 層に発現していた。近年、leucine-rich repeat (LRR)を持つ膜タンパク質が、軸索誘導、神経再生やシナプスの可塑性に関することなどが明らかになり注目されている。そこで、NLRR4 の神経系での機能を解析する目的で、この遺伝子のノックアウトマウスを作製し解析を行った。

NLRR4 欠損マウスは、外見上、および解剖学的構造上、正常に発生した。NLRR4 が海馬および皮質 V, VI 層に発現していること、海馬が学習記憶の中核であること、海馬 CA1 の錐体細胞は場所細胞として知られており空間認知に重要であり嗅皮質の V 層に投射していることが知られており、NLRR4 が海馬から皮質へと記憶が移っていく際に NLRR4 が機能しているのではないかと考えて学習、記憶に関する行動解析を行った。海馬依存的学习課題である状況恐怖条件付け(contextual fear conditioning)およびモリス水迷路の課題において学習終了 1 日後では正常に記憶されているにも関わらず、学習終了 4 日後では記憶の消失が認められた。獲得した記憶は、学習後数時間のうち新規タンパク質合成に依存して短期記憶から長期記憶へと変換される。この過程を細胞内固定化と言う。これは、学習前にタンパク質合成阻害剤を投与した薬理的解析や cAMP responsive element binding protein (CREB)などの変異マウスも短期記憶は正常で長期記憶に異常が出るといった実験結果から明らかにされた。NLRR4 欠損マウスは、学習終了 1 日後では正常に記憶が保たれているので細胞内固定化は、正常であると考えられる。長期記憶は、システム内固定化され永続的長期記憶へ変換され、海馬から皮質へと置き変る。したがって NLRR4 欠損マウスで見られ

る異常は、システム内固定化の異常と考えられる。システム内固定化に関する因子は α CaMKII しか知られておらず、申請者の研究は永続的長期記憶の形成の分子機構に新しい知見を与えるものである。

次に NLRR4 欠損マウスで見られる異常が海馬の異常であるかどうか海馬非依存的学習課題において検討した。音恐怖連合条件付けは海馬の除去を行なって海馬特異的に NMDAR を不活化しても正常に行われ、扁桃体依存的に音恐怖連合学習が行われている。音恐怖連合学習においては、NLRR4 欠損マウスは学習 4 日後以降も正常に行われていた。以上の結果は、NLRR4 の遺伝子欠損により扁桃体には異常が無いことを示唆している。

様々な生物において、転写因子 CREB は長期記憶形成に必須の転写因子として知られている。申請者は、NLRR4 遺伝子欠損マウスの海馬において、CREB のタンパク質量が野生型に比べ減少していること、また、CREB の標的遺伝子である *14-3-3 eta* も減少していることを明らかにした。この結果は、NLRR4 が CREB 経路で働いており、そのために NLRR4 欠損マウスでは記憶形成に異常が生じる可能性を示唆している。

次に NLRR4 欠損マウスの海馬での long-term potentiation (LTP) を検討した。NLRR4 遺伝子欠損マウスでは、海馬 CA3-CA1 synapse における初期の LTP は正常に行われていた。この結果は、行動解析で学習後 1 日において正常に記憶が維持され、細胞内固定化が正常である結果と一致している。

また、NLRR4 はマウスの発生に伴って嗅球および嗅皮質で発現が劇的に変化することを見出した。嗅覚系において、嗅細胞は非常に秩序だった投射をすることが知られているが、その分子機構には不明な点が多い。NLRR4 の発

現パターンの変化は、NLRR4 が嗅覚の発生において機能する可能性を示唆するものである。

以上のように、NLRR4 の遺伝子欠損マウスの解析から、NLRR4 が海馬依存的永続的長期記憶の形成に関与する膜タンパク質であることを明らかにした。また、NLRR4 が何らかの形で転写因子 CREB の活性に関与し、それが永続的長期記憶の形成に重要である可能性を示唆した。