

氏 名 Wajeeha Aziz

学位(専攻分野) 博士(理学)

学位記番号 総研大甲第 1564 号

学位授与の日付 平成24年9月28日

学位授与の要件 生命科学研究科 生理科学専攻  
学位規則第6条第1項該当

学位論文題目 Temporal patterns of training determines distinct kinetics of  
structural plasticity, memory formation and decay

論文審査委員 主 査 教授 川口 泰雄  
教授 重本 隆一  
教授 鍋倉 淳一  
教授 北澤 茂 大阪大学

## 論文内容の要旨

During learning, memories are formed in the selective population of the neuronal circuits which are then consolidated in order to persist. These memory processes are supported by distinct sub cellular events such as reversible functional modifications of synaptic transmission and persistent structural modifications in size or number of synaptic connections. However, how these synaptic modifications relate to the dynamics of formation and decay of memory in behaving animals remain elusive. Memory formation and its persistence are also known to be sensitive to the temporal features of the stimulus presentation, highlighted in the well-known "spacing effect" observed in a variety of explicit and implicit memory tasks. Training trials with resting intervals between them (spaced training) produce stronger and longer-lasting memory than the same number of trials with no interval (massed training). Despite numerous behavioral and molecular studies of the spacing effect, no conjoint study has demonstrated the underpinning synaptic plasticity in the expression of spacing effect during physiological learning.

In invertebrate models, the different phases of memory are well dissected based on the temporal patterns of training. In *Drosophila*, implicit memory for odor avoidance task formed by massed training decayed over 3 days whereas by spaced training the memory retention was seen at least for a week. Studies using *Aplysia* model has shown that spaced training produced sensitization of gill withdrawal reflex lasting more than 24 h while massed training failed to induce long-term memory. However, there is no study showing the time course of memory formation and its decay following massed or spaced training in the mammalian brain. Here, the author set out to study the temporal evolution and decay of memory and its correlation with synaptic modifications in learning with distinct temporal patterns of training.

Adaptation of horizontal optokinetic response (HOKR) is a simple model of cerebellar motor learning to stabilize the visual image of moving surround. A phylogenetically preserved cerebellar lobule, flocculus (Fl) is known to be involved in the control of horizontal eye movement and the adaptation of HOKR. Previously, they have shown that short-term adaptation (STA, within a day) of HOKR in mice is accompanied with a transient reduction in number of AMPA receptors in parallel fiber to Purkinje cell (PF-PC) synapses which is recovered after 24 h. Long-term adaptation (LTA) of HOKR (days to weeks) with repeated 1 h massed training for five days was accompanied with long-lasting reduction of PF-PC synapses in the flocculus (Fl). Thus, HOKR serves as an ideal tool to study the effect of distributed and continues motor practice on kinetics of the memory and its relationship to the modifications in PF-PC synapses. In the present study; I examined adaptation of horizontal optokinetic response by massed or spaced training with varying intervals in mice. Despite similar acquisition of HOKR gain at the end of all training protocols, the retention of HOKR examined at 24 h was significantly resting-interval dependent. Massed training showed significant reduction of gain at 24 h. Also, the shorter intervals of 10 and 20 min produced poor retention of HOKR gain

## 博士論文の審査結果の要旨

同じ量の学習を行う場合、時間的に一度にまとめて学習するよりも休止をはさみながら行う方が覚えがよいことが経験的に知られており、動物実験でもより効率的な長期記憶形成が観察され、spacing effectと呼ばれている。しかしながら、この効果の基盤となっているメカニズムや神経回路結合の上でどのような違いが生じるのか、ということはほとんど知られていない。Aziz氏は、小脳運動学習の単純なモデルである水平性視機性眼球運動(HOKR)の適応現象を用いて、マウスにおいてspacing effectが最も顕著に認められる条件とその時に生じる神経結合の変化を平行線維—プルキンエ細胞間(PF-PC)シナプスにおいて解析した。HOKRの適応は、視野の中で動く物体に対して眼球を追従させることによって視線を安定させる役割を持っている。水平眼球運動を調節することが知られている小脳の片葉中央三分の一の領域においては、1時間の水平性視機性眼球運動の学習によってPF-PCシナプス内のAMPA型受容体の減少を伴う長期抑圧現象が引き起こされることが知られている。さらにこの学習を5日間連続で行った場合は、この領域の約三分の一のPF-PCシナプスが除去される。これらの変化はプルキンエ細胞の出力低下によってその投射先である内側前庭核でのシナプス長期増強現象を通じてHOKRの適応を引き起こすと考えられる。

Aziz氏は、まず1時間のHOKR学習を4回15分ずつに分割し、その間に0分、10分、20分、40分、60分のインターバルを挿入したトレーニングによる学習効果を調べた。その結果、トレーニング直後の適応には、各トレーニング間でほとんど違いが認められなかったにもかかわらず、1日後の記憶保持は60分のインターバルを置いたトレーニングで顕著に高く、過去に報告されている1日のインターバルをおいた場合の長期記憶の保持と同様であることがわかった。片葉で電子顕微鏡解析を行ったところ、このトレーニング直後のAMPA型受容体減少はインターバル無しの場合と同程度に認められたが、1日後のPF-PCシナプスの減少率はインターバル無しよりも顕著に増強し60分のインターバルで50%に達した。個々の動物において適応の程度とシナプスの減少率の間には高い相関が認められた。この神経結合の形態時間変化をさらに詳しく調べたところ、60分のインターバルの場合は、トレーニング4時間後で既に50%のPF-PCシナプス除去が起こっていること、トレーニング直後ではシナプス面積やスパイン体積の減少が起こっていることが明らかになった。さらに、インターバル無しのトレーニングでも学習5日後では、60分のインターバルの場合と有意差のない長期記憶が形成されることが明らかになった。これまでインターバル無しの一回のみでのトレーニングでは長期記憶は形成されない、と考えられていたがこの結果は非常にゆっくりとした長期記憶の形成が生じることを初めて示したものである。興味深いことに、5日後以降一ヶ月以上にわたる記憶保持過程を観察した結果、再びインターバルの有無による有意差が明らかとなった。トレーニング15日後では、インターバル無しの場合は長期記憶が消失していたのに対し、60分のインターバルの場合はほぼ完全な記憶の保持が認められた。この時点でのPF-PCシナプスの減少率はインターバル無しでほぼ0%であったのに対し、60分のインターバルの場合は50%のPF-PCシナプス減少が維持されていた。

以上の結果は、HOKR 学習におけるインターバルの有無による長期記憶の時間経過と PF-PC シナプスの減少の時間経過が極めて高い相関を示すことを初めて明らかにしたものである。Aziz 氏の結果は神経結合の長期的な reorganization が spacing effect のメカニズムの一つとして、重要であることを示唆しており、学位論文として十分なものであると考えられた。