

早稲田大学 大学院先進理工学研究科

博士論文審査報告書

論文題目

淡水産巻貝における絶食による学習能力の調節とその機序

Regulation of learning ability by food deprivation in the pond snail  
*Lymnaea stagnalis*

申請者

戸谷 勇輝

Yuki TOTANI

生命理工学専攻 物理生物学研究

2022年2月

ヒトを含めた様々な動物において、栄養状態が認知機能に与える影響について数多くの報告がなされている。しかし、その機構については不明な点が極めて多い。本博士論文では、実験動物としてヨーロッパモノアラガイ (*Lymnaea stagnalis*) を用いて、認知機能の中でも特に研究が進んでいる学習記憶機構におけるセロトニンシグナルに着目し、絶食（すなわち栄養状態）・学習記憶能力・セロトニンシグナル機構の3者の関係を明らかにすることを試みた。モノアラガイは血液脳関門をもたないため、絶食による中枢神経系への影響や体内に導入された薬物の影響などが調べやすく、神経構造が簡単なため学習記憶機構について細胞レベルや分子レベルでも多くの知見が蓄積されており、かつその結果、セロトニンシグナルが行動制御に深く関わっていることが知られている。そのため、栄養状態が認知機能に与える影響を調べるためには、大変優れた実験動物であると言える。

本博士論文では最初に、モノアラガイに施す学習方法として味覚嫌悪学習が説明された。モノアラガイはそもそも、ショ糖溶液（甘味）刺激によって咀嚼運動が引き起こされ、塩化カリウム溶液（苦味）刺激によって殻への引き込み運動が誘発される。この2つの刺激をそれぞれ条件刺激と無条件刺激として繰り返し提示されると、古典的条件づけが成立し、学習成立後はショ糖溶液刺激によって咀嚼運動が起こらないことが分かっている。先行研究においてはこの条件づけは手作業で行われてきたが、本博士論文では自動学習装置を開発し、条件づけそのものも、またその後の記憶の保持観察（すなわち口の動きに着目した咀嚼行動の撮影）も完全にコンピュータ制御による自動化に成功した。次に、絶食（すなわち栄養状態の変化）による味覚嫌悪学習能力の変化と、さらにはその際の中枢神経系内セロトニン量変化について調べた。結果、1日間の短期絶食では学習能力が向上し、5日間の長期絶食では学習能力の悪化が認められた。一方で、中枢神経系内セロトニン量は、逆相関しており、1日の絶食で減少し、5日の絶食で増加していることが分かった。さらに、絶食による中枢神経系内セロトニン量の変化の機序について調べた。セロトニンの代謝経路に着目し、まずはセロトニンの分解応答に着目したが、絶食は分解応答には影響を与えていなかった。そこでセロトニンの供給を考えるために、前駆体であるトリプトファン量に着目したところ、体液（血リンパ）では1日または5日の絶食によってトリプトファン量は減少していたが、中枢神経系内では絶食1日で多少の減少はあるものの、5日になると急激な増加に転じていることが分かった。すなわち、中枢神経系内ではトリプトファンが食料非依存的に増加する経路があることが示された。さらに調べたところ、この食料非依存的増加がオートファジーによるもので、すなわち中枢神経系内の細胞内タンパク質や小器官がアミノ酸レベルに分解し再利用され、絶食への危機を回避している可能性が示唆された。そのトリプトファンとセロトニンの増加によって、モノアラガイは生き延びるものの、学習能力は悪化したものと考えられた。

これらをまとめた本博士論文は、次の5章から構成されている。

第1章では、本研究の背景と目的が述べられた。各種動物における栄養状態と認知機能について、また、モノアラガイの神経生物学における特徴について説明がなされ、本研究全体

の背景と目的について述べられた。査読の結果、審査員からは進化やバイアスという一般的な言葉の定義の曖昧さを指摘され、かつ、あまり一般論になるよりもモノアラガイの話に絞った方が良いのではないかというご示唆を頂いた。さらには、セロトニン以外のモノアミンについての説明が求められた。そこで、それらについて訂正と加筆がなされた。

第2章では、味覚嫌悪学習の自動学習装置についての説明がなされた。CPU パワーが少ないコンピュータを使っても、記録画像の処理領域を間引くことで計算処理時間が短くなり、目視と同等の精度で咀嚼回数の自動計測が可能となった。

第3章では、絶食による学習能力変化について、また中枢神経系内セロトニン量の変化について調べられた。短期絶食（1日）の際には学習能力の向上が認められたものの、セロトニン量は増加していた。また、長期絶食（5日）の際には学習能力は著しく低下するものの、セロトニン量は増加に転じていた。さらに実施された実験では、1日絶食したモノアラガイの中枢神経系内セロトニン量を人為的に増加すると、学習能力が低下することも示された。査読の結果、審査員からは中枢神経系全体としてのセロトニン量変化と、学習に作用する局所的な神経回路でのセロトニンの働きについて議論することが求められ、それについて加筆がなされた。

第4章では、絶食による中枢神経系内のセロトニン量変化のうち、特に5日の絶食でセロトニン量が増加する点についての研究が報告された。セロトニンの代謝経路を考慮すると、前駆体であるトリプトファン量の増加がカギを握っていることが予想された。食料依存的ではない経路として、本章ではオートファジーに着目した。5日絶食によってオートファジー活性が上昇し、さらにはオートファジーの抑制を減弱させる効果が確認された。その上で、絶食によるオートファジー誘導は転写制御には依らないことも示された。査読の結果、審査員からは、なぜオートファジーに着目したのか、またどのニューロンでオートファジーが起こっているのかをもっと具体的な記載が出来ないのか、という質問が出た。これらについて、加筆がなされた。観察した範囲で言えば、オートファジーは中枢神経系全体で起こっているとの説明を加えることになった。

第5章では、本研究の総括が述べられ、さらなる考察が展開された。動物は栄養状態の変化に応じて、最適な生存戦略をとることに成功していた。例えば、短期絶食での学習能力の向上は新たな環境への適応能力を高める可能性がある。一方、長期絶食では生存を最優先する戦略に切り替え、学習能力の抑制は、エネルギー消費を抑えることに繋がると考えられた。その際に、オートファジーによってアミノ酸不足を補填していると考えられた。

以上のように、本博士論文は、実験動物としてモノアラガイを用いることで、認知機能の中でも研究が進んでいる学習記憶機構におけるセロトニンシグナルに着目して、絶食（栄養状態の変化）・学習記憶能力・セロトニンシグナル機構の3者の関係を明確に示すことに成功し、神経生物学のみならず栄養生物学においても、重要な知見を与えた。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として相応しいものであると認める。

2022年2月

審査員

（主査）

早稲田大学教授 理学博士（早稲田大学）

伊藤悦朗

早稲田大学教授 博士（理学）（早稲田大学）

加藤尚志

早稲田大学教授 博士（理学）（早稲田大学）

花嶋かりな