

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 嗅覚系における神経回路形成と再生の分子機構

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点)

研究代表者

坂野 仁 (東京大学大学院理学系研究科 教授)

3. 研究内容及び成果：

ヒトやマウスの嗅神経細胞(嗅細胞)は、哺乳類の神経系としては珍しく、常時再生を繰り返す投射システムとして、神経回路の形成や再生の研究に有用な系を提供している。嗅覚受容体(odorant receptor : OR)遺伝子は、1つの細胞で1種類の受容体遺伝子が、2つある対立遺伝子の一方からのみ発現するというきわめてユニークな発現様式をとっている。また、嗅細胞の嗅球への軸索投射は、個々の細胞が発現する OR 分子の種類によってその位置が規定され、嗅球上の投射先である糸球構造(glomerulus)と OR の間には1:1の対応関係が成り立っている。したがって匂い情報が嗅上皮から入力されると、嗅球表面にはちょうど1,000個の糸球を素子とする電光掲示板のように、濃淡を含む糸球の発火のパターンが形成され、これによって匂いの種類と質を脳が識別すると考えられている。この匂い情報の2次元画像への変換は one neuron - one receptor および、one glomerulus - one receptor という、2つの基本ルールによって支えられているが、本研究課題ではこれらルールの分子基盤の解明を目的として研究を行った。

(1) 嗅覚受容体遺伝子の単一発現制御(サブグループ I)

本研究課題ではまず、OR 遺伝子の単一発現を保障する制御機構について解析した。多重遺伝子群の中から、一つの遺伝子を monoallelic に発現させるための制御機構は、どの様にして一つのプロモーターを活性化し、同時に残りの遺伝子の発現を抑えるかという、正と負、二つの制御に帰結される。この問題は長年、DNA 組み換えや遺伝子変換など遺伝子をエンハンサー領域に転座させるモデルによって説明出来るのではと考えられて来たが、当グループによる嗅細胞染色体の RNA-FISH 解析によって否定され、その後、嗅細胞の核を用いたクローンマウスの作成によって最終的に排除される事となった。当グループでは受容体の単一発現が、OR 遺伝子の一つ選択して活性化する locus control region (LCR)による正の制御と、発現された OR 分子によって残りの OR 遺伝子の新たな活性化を阻止する負のフィードバック制御によって保障されている事を見出した(*Science* **302**, 2088-2094, 2003)。

(2) 嗅覚系における神経回路形成の分子機構(サブグループ II)

この研究課題では、嗅細胞の軸索投射を嗅球の dorsal/ventral (D/V)軸と anterior/posterior (A/P)軸に分けて考察した。様々な OR 遺伝子のプローブを用いて嗅上皮切片の *in situ*ハイブリダイゼーションを行ったところ、個々の OR 遺伝子にそれぞれ固有な発現ゾーンのある事が示された。更に Dil 色素の軸索を介した嗅球からのトレース実験により、嗅細胞の嗅上皮での位置がその軸索投射に於ける D/V 軸のパラメーターになっている事が明らかとなった(*J. Neurosci.* **25**, 3486-3592, 2005)。

次に A/P 軸に沿った軸索投射のパラメーターであるが、我々は OR 分子において G タンパク質との共役に必要な部位(DRY モチーフ)を変異させると、伸長してきた軸索が嗅球の糸球層手前で停止することを見出した。この表現型は未成熟嗅細胞に発現する G_s の恒常活性型変異体によってレスキューされ、この G_s タンパク質の活性を変動させると嗅細胞の軸索投射位置が A/P 軸に沿って変化した(*Science*, **314**, 657-661, 2006)。我々は未

成熟嗅細胞に発現する G_s タンパク質が OR の種類に応じて異なる濃度の cAMP を産生し、これを cAMP 依存的 PKA が感知して、CREB などの転写調節因子を介してニューロピリン1など軸索投射分子の発現量を制御していると考えている。

次に軸索の収斂・選別であるが、これ迄、発現する OR が嗅細胞の軸索投射においてどのような役割を果たすのかについては、様々な憶測がなされて来た。例えば Axel 博士らのグループは OR 分子そのものが投射の path-finding や軸索の選別に直接関与すると主張した。この問題に関して我々は、OR の種類によって決定される嗅細胞の identity は、OR を介した神経活動に依存して転写量が決まる ephrinA/EphA などの反発分子と Kirrel2/Kirrel3 などの接着分子によって、軸索末端に分子コード化されていることを見出した (*Cell* 127, 1057-1069, 2006)。

(3) 嗅球領野の機能解析(サブグループ III)

当グループでは、一次投射の結果として嗅球上に形成された糸球地図が、二次投射に際してどのような意味と役割を持つのかについて検討した。我々は、嗅上皮の特定の領域に一過的にジフテリア毒素を発現するマウスを用いてゾーン1の嗅細胞を異的に除去し、対応する嗅球のゾーン1を糸球形成のない空白領域にし、野生型マウスが嫌うキツネの尿の成分 TMT を用いて忌避実験を行った。TMT は嗅球のゾーン1と非ゾーン1に存在する複数の糸球を発火させるが、ゾーン1除去マウスではゾーン1領域の糸球が欠失しているので、非ゾーン1領域の糸球のみで TMT の匂いを検出することになる。興味深い事に、野生型マウスは TMT を忌避するのに対し、ゾーン1除去マウスでは TMT に対し興味を示すものの嫌悪感を表さないことが示された。このゾーン1除去マウスの行動解析により、嗅球のゾーン1領域は匂い物質の本能的検知に、その他の領域は微妙な匂いの違いを識別するのに必要で有ることが示唆された(投稿中)。今後は、嗅球の領野と嗅皮質の層構造との対応、されにはその機能的役割分担を明らかにし、嗅覚系をモデルに、入力する情報の統合と出力する情報の分配という、中枢神経系における情報編集のメカニズムを解明したい。

4. 事後評価結果

4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

本研究は哺乳類の嗅覚系をモデルとして、その神経回路形成のメカニズムを解明した画期的な成果をあげた。嗅上皮にある多数の嗅細胞は、ゲノム上に約 1000 個ある嗅覚受容体のうちの1個のみを、それも1対の遺伝子の一方のみを発現すること、および嗅上皮上に散在する同じ嗅覚受容体を発現する嗅細胞の軸索は脳内に投射するときより集まって一つの糸球体に集中投射することが、本研究発足時に既にアメリカのグループによって明らかにされていた。しかしその遺伝子発現制御および軸索回路形成の制御に関する機構については推測の域を出ていなかった。本研究代表者は、この2つのきわめて興味深い現象の分子機構の解明を目指した提案を行い、その両方について世界が刮目する成果をあげた。それらは、ノーベル賞などで箔付けされていて一般に喧伝されていたモデルを否定するものであり、この実験系にまだノーベル賞が与えられていなければ間違いなく本研究がその対象になったと言えるほどである。これまで言われていたモデルは嗅覚系の特殊性に極度に依存したものであり、一般の研究者から嗅覚系のみが特別な機構を持つということは不思議なことだと言われていたが、本研究で得られた正しい結論はむしろこれまでショウジョウバエやマウスで解明されてきた分子機構と同じ考え方で理解できるものであった。

これらの成果の発表は、発表論文の数こそ少ないが、いずれも超一流のジャーナル(*Science*, *Cell* 等)に掲載されており、世界的に見ても大きなインパクトを与えた研究成果である。それを反映して、多くの国際会議にも招待されている。

4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

本研究は遺伝子発現制御、神経回路形成制御というライフサイエンスの重要な研究テーマに関して、きわめて基礎科学的なレベルで大きな貢献をしたものである。この分野の研究者は嗅覚系をテーマとしない者でも読むべき論文という意味で、発生分化再生領域全般の発展に貢献するところが大きい。当面の成果は医療応用や社会貢献という形にはならないが、この種の高度な基礎研究は将来の広い分野の研究によい影響を与えることは間違いなく、その先には神経再生や神経回路再生などの医療への貢献も期待できる。

4-3. その他の特記事項

なし