

## 嗅球における匂い経験依存的な神経回路再編の分子機構

### Molecular mechanisms that regulate the sensory experience-dependent development of dendritic spines in newborn olfactory bulb interneurons

奈良県立医科大学 坪井 昭夫

大脳皮質の視覚野や海馬で明らかにされているように、ニューロンは神経活動に応じて樹状突起の発達やシナプス形成を行うことにより、より精密化された神経回路に成熟する。また、嗅球における顆粒細胞と傍糸球細胞は抑制性の介在ニューロンで、胎生期のみならず成体期においても新生され続け、神経回路に編入されるという可塑性を持っている。さらに、この成体における嗅球の神経回路再編は神経活動の影響を受けることも知られている。しかしながら、嗅球における匂い刺激に依存的な神経回路再編については不明な点が多い。私共はこれまでに、匂い刺激依存的に発現する転写因子 **Npas4** (neuronal Per/Arnt/Sim domain protein 4) を同定し、それが嗅球介在ニューロンの樹状突起におけるスパイン（棘突起）形成を制御することを示していたが、その分子機構はわかっていなかった。

そこで私共は、**Npas4** が転写因子であることから、その下流にあるスパイン形成に関与する遺伝子の発現を制御していると推測した。本研究においては、先ず、**Npas4** 蛋白質が結合する DNA 領域を同定するクロマチン免疫沈降 - シークエンシング法 (ChIP-Seq: Chromatin immunoprecipitation-Sequencing) を用いて、その下流遺伝子を探索した。得られた候補遺伝子について、嗅球介在ニューロンでの発現を調べたところ、蛋白質の分解を促進するユビキチンリガーゼの 1 つである **Mdm2** (murine double minute 2) 遺伝子の発現が、**Npas4** ノックアウトマウスでは野生型よりも増加していた。次に、**Mdm2** が分解する標的蛋白質を、プロテオミクスの一つである iTRAQ (isobaric tags for relative and absolute quantitation) 法を用いて探索した。その結果、**Npas4** ノックアウトマウスの嗅球介在ニューロンでは、**Mdm2** 蛋白質の増加に伴って、微小管結合蛋白質である**ダブルコルチン** (doublecortin: Dcx) の分解が促進されていた。また、**ダブルコルチン** 遺伝子を嗅球介在ニューロンで過剰発現させると、スパイン密度が増加することが判明した。

このように本研究において、嗅球介在ニューロンでは、**Npsa4** の発現量に応じて、スパイン形成に関わる**ダブルコルチン**が **Mdm2** のユビキチン化により分解され、スパイン密度が制御されていることが明らかにされた (Yoshihara *et al*, **Cell Reports**, 8, 843-857, 2014)。匂い刺激により神経活動が盛んになった嗅球介在ニューロンでは、**Npas4** の発現量が増加し、それに伴ってスパイン密度が増加して、より多くの二次ニューロンと接続できるようになると推測される。私共は、実際に、嗅球介在ニューロンで特異的に **Npas4** を欠損させたマウスが、構造的に類似した 2 つの匂い分子を弁別学習することができないことを見出しているため、匂い刺激によるスパイン密度の増加は精密な嗅覚情報処理に必須であることが示唆された (Yoshihara *et al*, **Cell Reports**, 8, 843-857, 2014)。今後、嗅球介在ニューロン特異的な **Npas4** ノックアウトマウスを用いて、匂い情報処理を詳細に解析することにより、新生ニューロンによる匂い刺激依存的な嗅球神経回路の再編に関する生理的意義が明らかになると期待される。また、脳梗塞モデルマウスにおいて嗅球介在ニューロンの一部は、損傷した脳の領域に移動し修復する性質を持つことが知られているので、本研究は脳梗塞などによる神経障害を回復させる再生医療における新たな治療法の開発にもつながると期待される。