

論文の内容の要旨

論文題目

Neural circuit mechanisms of attractive social behavior in the main olfactory system

(主嗅覚系を介した社会行動を引き起こす神経回路の形成メカニズム)

氏名：井ノ口（加藤） 霞

序論

生物は外界からの様々な情報を五感を介して知覚・認識し、状況に応じた適切な行動を引き起こしている。この高度な情報処理は正確な神経回路構築により支えられている。マウス嗅覚系は主嗅覚系と鋤鼻系の二つのシステムに大別される。前者は一般的な匂い物質を受容し、後者はフェロモン物質を認識していると考えられている。主嗅覚系では、匂い分子と嗅覚受容体との結合情報は嗅神経細胞（olfactory sensory neuron: OSN）を介し終脳前部に位置する嗅球へと伝えられている。嗅球へ伝えられた匂い情報は二次神経細胞である僧帽細胞（Mitral cell: MC）を介し高次脳領域である嗅皮質（前嗅核、嗅結節、梨状皮質、皮質扁桃体、嗅内野）へと伝えられている（図1）。一方、鋤鼻系では、鋤鼻器官でフェロモン物質が受容され、その情報は副嗅球へと伝えられている。鋤鼻系の二次神経細胞は情動を制御している扁桃体内側核と分界条床核に軸索を投射させていることが分かっている。

主嗅覚系の嗅球背側領域では、天敵臭など異種の匂いを認識しており、腹側領域では尿など同種の匂いを認識していることが明らかになっている（図1）。このように嗅球

の背側と腹側では機能的に違いが存在することが示唆されている。僧帽細胞の投射領域の一つである前嗅核背側は嗅球背側の僧帽細胞から、腹側は腹側の僧帽細胞からの入力を受けている。また、皮質扁桃体に投射してくる僧帽細胞は嗅球の背側に位置している割合が多いことが示されている。これらの報告は僧帽細胞の投射領域の違いが機能差を生んでいることを示唆している。しかしながら、投射の違いを制御する分子メカニズムや投射領域の違いがどのように行動へ関与しているのかは明らかにされていない。これまで個々の僧帽細胞に個性が存在するのか、個性がある場合はどのように決定されているのか十分解明されておらず、解析をより困難にしていた。

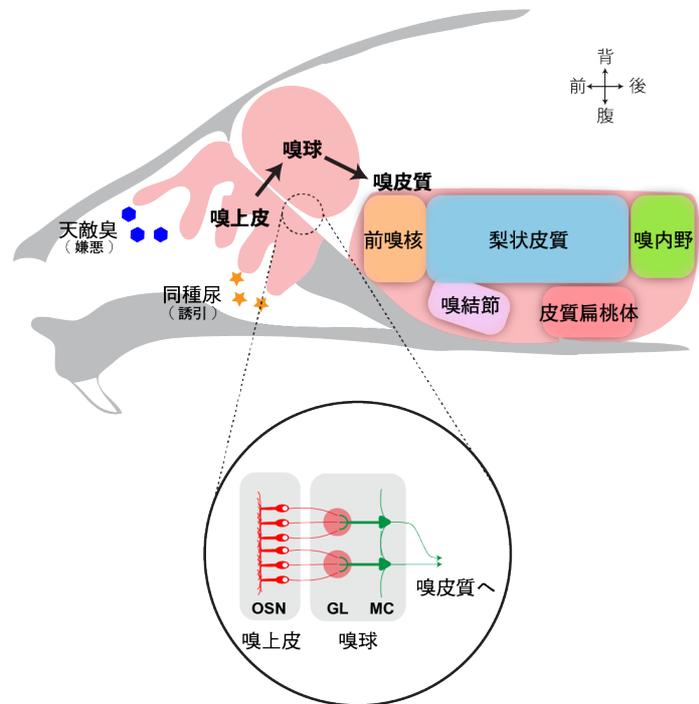


図1 マウス嗅覚系の概要図

結果

僧帽細胞の個性獲得については OSN 依存的または OSN 非依存的の二つの可能性が考えられる。前者は OSN からの情報により僧帽細胞の個性が決定する場合、後者は OSN とは無関係に僧帽細胞の個性が決定している場合である。本研究では嗅球腹側に投射する OSN と嗅球腹側に位置する僧帽細胞が共に軸索ガイダンス分子である Neuropilin2 (Nrp2) を発現していることを明らかにした (図2)。僧帽細胞における Nrp2 の発現を経時的に観察すると OSN の軸索と結合するより前に Nrp2 の発現が検出されることがわかった。このことから OSN とは無関係に僧帽細胞の個性が決定しているというモデルが支持された。次に Nrp2 が OSN の軸索投射と僧帽細胞の細胞体配置に関わっているかを検証するために Nrp2 のノックアウトマウスの解析を行った。その結果、野生型では嗅球腹側に投射していた OSN がノックアウトマウスではより背側に観察された。僧帽細胞についても同様に嗅球腹側の僧帽細胞が背側領域で観察された。Nrp2 の反発性リガンドとしては Semaphorin3F (Sema3F) が知られている。先行研究から Sema3F は嗅球背側の OSN で発現していることがわかっている。OSN 特異的 Sema3F ノックアウトマウスを用いて

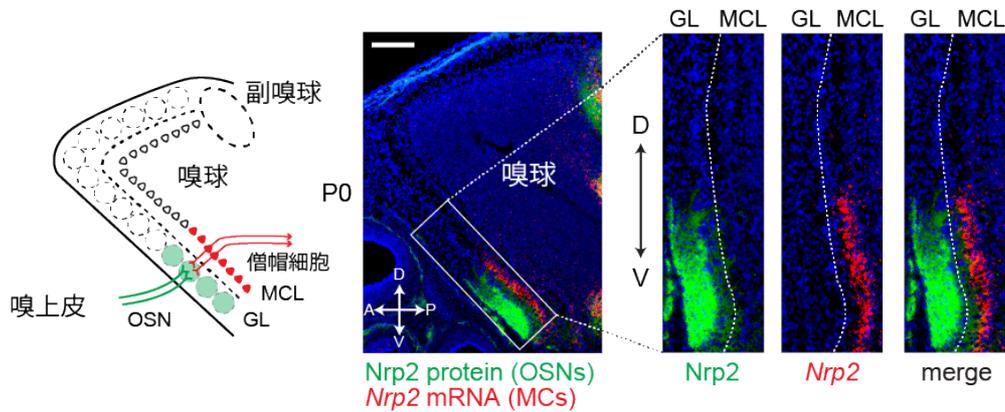


図2 嗅球における Nrp2 の発現

Nrp2 陽性 OSN の軸索投射および僧帽細胞の配置を調べた。Nrp2 ノックアウトマウスでみられたように本来腹側に投射する Nrp2 陽性 OSN と僧帽細胞は、嗅球背側にも検出された。この結果は嗅球背側由来の共通のリガンドが OSN の軸索投射と僧帽細胞の細胞体配置に関与し、両者間の適切なシナプス形成を可能にしていると考えられる。

Nrp2 は嗅球の腹側僧房細胞で特異的に発現し、生後数日で消失する。発生過程における一時的かつ位置特異的な Nrp2 の発現は僧帽細胞の大まかな回路構築、軸索投射領域の規定に寄与する可能性が高いと考えられる。Nrp2 を発現するサブタイプの軸索投射領域に特異的なパターンがあるかを検証するために、Nrp2 プロモーター依存的に Cre recombinase を発現する BAC トランスジェニックマウスを作製した。このマウスを僧帽細胞特異的に、かつ Cre 依存的に標識タンパク質 (EGFP) を発現するトランスジェニックマウスと掛け合わせることで、僧帽細胞の軸索投射を特異的にラベルした。この実験により Nrp2 陽性細胞は扁桃体内側核 (aMeA) に投射していることが明らかになった。さらに、Nrp2 のノックアウトマウスにおいては、扁桃体内側核への軸索投射に異常がみられることが観察された。これまで、扁桃体内側核は鋤鼻器からの入力を受けていることが知られており、“鋤鼻器扁桃体”と言われていたが、主嗅覚系からの情報も伝達されていることが示された。扁桃体内側核は情動の発現に重要な役割を果たすことがこれまでの研究から明らかになっており、マウスの性行動の制御にかかわっていることが示されてきた。鋤鼻器官のシグナル伝達に必須と考えられている TRPC2 チャネルのノックアウトマウスでは雌の性行動の雄化や、雄の一部の性行動異常が観察されている。一方で、雌を呼ぶ求愛ソングである Ultrasonic Vocalization (USV) や、雌に対するマウンティング行動は雄の TRPC2 チャネルノックアウトマウスにおいて正常であることが報告されており、鋤鼻器以外の嗅覚入力に関わっていると考えられている。そこで、主嗅覚系から扁桃体内側核

への投射に異常がみられる僧帽細胞特異的 Nrp2 ノックアウトマウスにおいて、性行動への影響を調べた。その結果、異性マウスへの誘引行動や求愛ソングである USV の発生が優位に減少していることが明らかになった。

考察

本研究から、Nrp2-Sema3F signaling が OSN の軸索投射、僧帽細胞の細胞体配置および扁桃体内側核への投射を制御し、末梢神経から高次脳領域までの一連の回路形成を担っていることが明らかになった (図 3)。さらに、主嗅覚系の嗅球腹側領域から扁桃体内側核への神経回路が性行動の誘起に必要であることが示唆された。今回の研究成果により、接続する 2 種類の神経グループが、共通のリガンドにより特異的な回路構築を可能にするという新しいメカニズムを提唱できると考えている。

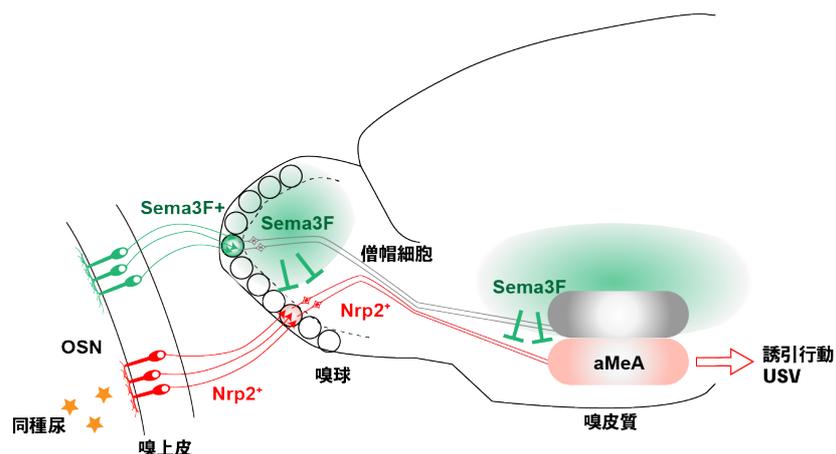


図 3 Nrp2-Sema3F による神経回路形成