［課程－2］

審査の結果の要旨

氏名　持丸　大輔

本研究は嗅球の背側領域への嗅覚入力が欠失したマウス（ΔD マウス）と鼻孔閉塞を行ったマウスを用い、詳細な行動解析との組み合わせにより嗅球成体新生顆粒細胞（GC）の選別及び樹状突起の発達における行動様式と嗅覚入力の役割を明らかにしようと試みたものであり、下記の結果を得ている。

１．BrdU による新生 GC 標識実験により、ΔD マウス嗅球の嗅覚入力が欠失した背側領域には、腹側領域や通常マウスの嗅球と比べ、高密度に新生 GC が集まる（標識後 9-13 日）が、その後多くの GC が排除されることが示された。またその結果、ΔD マウス嗅球の背側領域における新生 GC の長期生存率は、腹側領域や通常マウス嗅球と比べ、有意に低くなることも示された。

２．摂食制限を行ったΔD マウス嗅球で細胞死を起こした GC の密度解析から、食餌開始直前の時間帯では細胞死を起こした GC の密度は背側領域、腹側領域共に通常マウス嗅球と同程度であったが、食餌開始後 2 時間では腹側領域では通常マウス嗅球と同程度に増えるのに対し、背側領域ではより多くの GC が細胞死を起こしていることが示された。また、食餌前後でΔD マウス嗅球で細胞死を起こしている GC の多くは新生 GC であることも示された。

３．食餌開始から 2 時間のΔD マウスの行動解析から、食餌開始後 1 時間から 2 時間の間にマウスは休眠行動を行っていることが明らかになり、その行動を阻害すると背側領域、腹側領域共に上記 2 で見られた GC の細胞死の増加が抑制されることが示された。

４．新生 GC の形態解析から、レンチウイルスによる EGFP 標識後 14 日の新生 GC において、鼻孔閉塞により嗅覚入力を遮断された嗅球の新生 GC は通常の嗅球の新生 GC と比べ、嗅球の mitral cell layer (MCL)での分岐が増え、その結果 MCL に含まれる樹状突起の総長が長くなることが示された。

５．さらに樹状突起上のスパインなどの突起に着目した解析から、嗅覚入力が阻害された嗅球の新生 GC は通常嗅球の新生 GC と比べ、external plexiform layer (EPL)では突起の数が減少する一方で、MCL では増加することが示された。また、個々の新生 GC において EPL 及び MCL に存在する樹状突起上のスパインなどの突起の内、MCL に存在する突起の比率を調べたところ、通常嗅球の新生 GC では約 20%であったのに対し、嗅覚入力が阻害され

た嗅球の新生 GC では約 70%であり、新生 GC のスパインなどの突起の分布が嗅覚入力の有無によって大きく変化することが示された。

６．最後に、スパインなどの突起の大きさに着目して解析を行ったところ、嗅覚入力を遮断した嗅球における新生 GC の EPL の突起の直径は通常嗅球の新生 GC と差は見られなかったが、MCL では嗅覚入力を遮断した嗅球の新生 GC において通常嗅球の新生 GC と比べて比較的大きな直径の突起が占める割合が高いことが示された。

以上、本論文では局所的な嗅球への嗅覚入力の欠如はその領域の新生 GC の排除を促進する一方で、この局所嗅覚入力依存的な新生 GC の細胞死の増加は食後休眠時に引き起こされることを明らかにした。また、嗅覚入力の欠如により新生 GC の嗅球内での形態が変化することも明らかにした。本研究は、局所的な嗅覚入力依存的に嗅球の新生 GC の生死が決められ、不要な新生 GC の排除は休眠時のシグナルによって引き起こされるという 2 段階の制御によって、嗅球回路の再編成が行われることを示唆するものである。また、嗅覚入力依存的な新生 GC の形態変化は、これまでほとんど明らかにされてこなかった新生 GC の組み込み機構の解明に重要な貢献を果たすと考えられる。これらの結果は、嗅球における新生 GC の選別や組み込み機構の解明に留まらず、感覚入力と神経回路の編成、覚醒―睡眠サイクルによる神経回路の変化など神経科学全体にとって重要な貢献をなすと考えられ、学位授与に値するものと考えられる。