

## 成体脳における神経回路の恒常性維持機構の解明と脳神経疾患治療法の創出

坪井昭夫

奈良県立医科大学先端医学研究機構 脳神経システム医科学

## 【研究の背景】

匂いの情報処理を行なう嗅球の介在ニューロンは、神経細胞としては例外的に、成体の脳においても常に新生している。側脳室周囲で生まれた嗅球介在ニューロンは、RMS (rostral migratory stream) と呼ばれるルートを通って嗅球へと移動し、生涯を通じて神経回路に組み込まれて、失われたニューロンと置き換わることで、その恒常性を維持している<sup>1)</sup>(図1)。RMS 内では、周囲のアストロサイトや血管が介在ニューロンの移動をサポートすることが報告されている<sup>2, 3)</sup>。また、嗅球に到達すると、二種類の介在ニューロンである顆粒細胞と傍系球細胞は移動方向を変え、それぞれ異なる層の神経回路に組み込まれる。

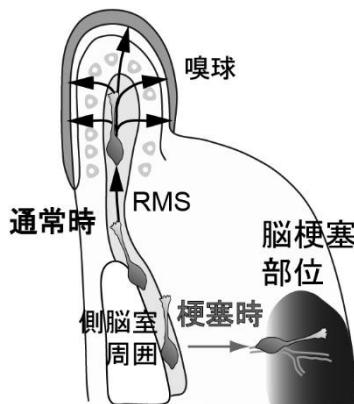


図 1 側脳室周囲では、成体の脳内でもニューロンの新生が起こっている。新生ニューロンは、通常時には前方に移動して、嗅球の神経回路に組み込まれる。しかしながら、脳梗塞モデルマウスでは、新生ニューロンが血管に沿って梗塞部位へ移動する。

## 【目的】

嗅球介在ニューロンの発達には、外界からの匂い刺激が重要な役割を果たす。片側の鼻孔を閉塞して神経活動を低下させると、閉塞側の嗅球では介在ニューロンの数が減少し、個々のニューロンの樹状突起の発達やシナプス形成は阻害される。申請者らはこれ迄に、マイクロアレイによるスクリーニングを行い、「嗅球介在ニューロンでの樹状突起の発達やシナプス形成は、どうやって神経活動依存的に制御されているのか?」という謎を追いかけてきた<sup>4)</sup>。そして、転写因子である Npas4 遺伝子の発現が、嗅球介在ニューロンで匂い刺激依存的に誘導されていることを新たに見出した。しかしながら、Npas4 がどのようにしてシナプスの形成を制御しているのかは不明であったので、本研究において、その機能を解明し、臨床応用に繋げることを目指した。

## 【方 法】

- 1) レンチウイルスベクターを用いた Npas4 の過剰発現
- 2) レンチウイルスベクターを用いた Npas4 の発現抑制
- 3) Npas4 ノックアウトマウスを用いた解析
- 4) Npas4 抗体を用いたクロマチン免疫沈降 - シークエンシング(ChIP-Seq) 解析
- 5) 野生型と Npas4 ノックアウトマウスの嗅球に関するプロテオミクス解析

## 【結 果】

- 1) レンチウイルスを用いて Npas4 遺伝子を過剰発現した嗅球介在ニューロンでは、コントロールに比べて樹状突起のスパン密度が増加していた<sup>5)</sup>。
- 2) レンチウイルスを用いて Npas4 遺伝子の発現をノックダウンした場合には、野生型の嗅球介在ニューロンに比べて樹状

突起のスパイン密度が減少していた<sup>5)</sup>。

- 3) Npas4 遺伝子をノックアウトしたマウスでは、野生型の嗅球介在ニューロンに比べて樹状突起のスパイン密度が減少していた<sup>5)</sup>。  
これらの結果から、嗅球介在ニューロンでは、匂い刺激により Npas4 遺伝子の発現が誘導され、それに伴ってスパイン密度が増加することが明らかになった。
- 4) Npas4 は DNA 領域に結合して遺伝子の発現を調節する転写因子であるので、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。そこで、Npas4 が発現制御している下流遺伝子を、ChIP-Seq 法を用いて探索した。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 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<sup>5)</sup>。
- 5) Mdm2 がユビキチン化することにより分解される標的蛋白質を、プロテオミクスを用いて探索したところ、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、微小管結合タンパク質であるダブルコルチン (Dcx) の分解が促進されていた<sup>5)</sup>。さらに、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<sup>5)</sup>。

### 【考 察】

本研究により、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なった。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<sup>6)</sup>。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、匂いの感知や識別に関して行動学的・電気生理学的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。

### 【臨床的意義・臨床への貢献度】

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<sup>7)</sup>(図1)。従って、本研究は今後、脳梗塞などによる神経障害を回復させるための新規治療法の開発にも繋がると期待される。

### 【参考・引用文献】

- 1) Imayoshi, I. et al.: Nat Neurosci, 10, 1153-61 (2008).
- 2) Whitman, M. C. et al.: J Comp Neurol, 516, 94-104 (2009).
- 3) Kaneko, N. et al.: Neuron, 67, 213-23 (2010).
- 4) Yoshihara, S. et al.: J Neurosci, 32, 2217-26 (2012).
- 5) Yoshihara, S. et al.: Cell Rep, 8, 843-57 (2014).
- 6) Yoshihara, S. et al.: Front Neurosci, 9, 514 (2016).
- 7) Yamashita, T. et al.: J Neurosci, 26, 6627-36 (2006).