

## 嗅覚受容体遺伝子の発現制御と軸索投射 Odorant receptor gene expression and projection of olfactory sensory neurons

坂野 仁 (Sakano Hitoshi)

東京大学・大学院理学系研究科・教授



### 研究の概要

匂い情報処理の基本原則である、(1)嗅覚受容体(odorant receptor ; OR)遺伝子の単一発現制御(one neuron - one receptor rule)の分子基盤、及び(2)発現する OR 分子によって規定される嗅神経回路形成の分子基盤(one glomerulus -one receptor rule) を解明することに成功した。

研究分野／科研費の分科・細目／キーワード

分子生物学／神経科学・神経科学一般／嗅覚受容体、遺伝子発現制御、神経回路形成

### 1. 研究開始当初の背景・動機

マウスの OR 多重遺伝子では、免疫系の抗原受容体遺伝子同様、一つの嗅神経細胞で一種類の OR 遺伝子が、二つある対立形質の一方からのみ発現するという極めてユニークな発現様式をとっている。また、嗅神経細胞の嗅球への軸索投射は、個々の嗅神経細胞が発現する OR 分子の種類によって規定され、嗅球上の投射先である糸球構造と OR の間には 1:1 の対応関係が成り立っている。従って嗅球表面には、ちょうど一千個の糸球を素子とする電光掲示板のように、濃淡を含む発火のパターンが形成され、この“画像”によって匂いの種類を脳が識別すると考えられていた。

### 2. 研究の目的

匂い情報の二次元画像への変換の基本原則である、(1)個々の嗅神経細胞のリガンド特異性を決定する単一 OR 遺伝子発現の分子機構、即ち one neuron - one receptor rule の分子基盤の解明、及び(2)同種の OR 分子を発現する嗅神経細胞の軸索が嗅球上で収斂し、特定の糸球に投射する、いわゆる one glomerulus -one receptor rule の分子基盤を明らかにすることを目指した。

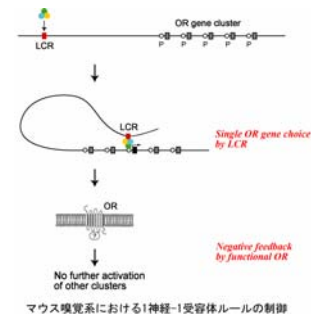
### 3. 研究の方法

本研究を行うに当たり、現在も適当な嗅神経細胞株等が存在しないので、我々は各仮説を検証するために、全て遺伝子組み換えマウスを作製し、マウス個体を用いて OR 遺伝子の発現、嗅神経回路形成についての解析を行った。

### 4. 研究の主な成果

#### (1)OR 遺伝子の単一発現制御

個々の嗅神経細胞が、如何にしてそのアイデンティティであるリガンド特異性を獲得するのかは、嗅覚系の分子生物学にとって最大の課題の一つであった。免疫系の抗原受容体遺伝子の場合と同様、多数の類似遺伝子群の中から、たった一つを相互排他的かつ mono-allelic に発現する分子機構は、いかにして一つのプロモーターを活性化し、かつ、残りのプロモーターの活性化を抑制するかという、二つの連携した制御に帰結される。我々が発表した論文(*Science* **302**, 2088, 2003)は、これに答えるものとして広く注目を集めた。我々が提唱した正及び負、二つの制御メカニズムのうち、正の制御である LCR による単一プロモーターの選択は、視覚系錐体細胞における緑と赤の光受容体遺伝子の相互排他的選択にそのプロトタイプが見られ、一方、OR 分子による負のフィードバック制御については、免疫系の allelic exclusion に同様の例が認められる。



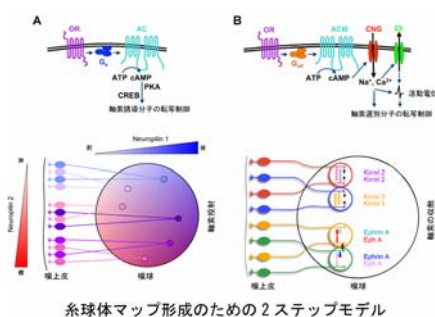
#### (2)嗅神経回路形成の分子機構

嗅神経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 DiI 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。ここで得られた知見は、嗅上皮を 4 つのゾーンに分けるというこれ迄の考え方に修正を迫るものである。

次に A/P 軸に沿った軸索投射のパラメーターであるが、申請者らは G タンパク質を介して入力されるシグナルの強さがこのプロセスに関わる可能性について検討した。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。またこの表現型は未成熟嗅細胞に発現する G<sub>s</sub> の恒常活性型変異体によってレスキューされ、この G<sub>s</sub> 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 軸に沿って変化する事が示された。更に cAMP 依存的なリン酸化酵素 (PKA) や転写制御因子 CREB の活性変動も A/P 軸に沿った軸索投射に影響を与えた。これらの結果により、cAMP のシグナルレベルが、嗅細胞の投射位置の決定に関与するという新しい可能性が示唆された。我々は、未成熟嗅細胞に存在する G<sub>s</sub> 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 依存性 PKA が感知して、CREB などの転写調節因子を介し軸索投射分子の発現量を制御していると考えている。

更に軸索の収斂・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。我々は、神経細胞の identity と軸索投射の基本原理は嗅覚系に限らず神経系全般に適用されるべきとの立場から、Axel らの「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」とするモデルには無理があると考えて来た。この問題に関して我々は最近、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。



## 5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

本研究の独創的な点としては、我々によって新たに提唱された単一 OR 遺伝子発現の負の feedback 制御、及び神経の軸索末端に表現される neuronal identity code の考え方を挙げることが出来る。本研究は、嗅細胞の個性がどのように獲得されそれが軸索末端にどう表現されるのか、という神経科学一般に敷衍できる重要な課題に対し一定の答えを与えたという意味で大きなインパクトを与えた。

## 6. 主な発表論文

(研究代表者は太字、研究分担者には下線)  
Serizawa, S., Miyamichi, K., Takeuchi, H., Yamagishi, Y., Suzuki, M., and **Sakano, H.**: A neuronal identity code for the odorant receptor-specific and activity-dependent axon sorting. *Cell* **127**, 1057-1069 (2006).

Imai, T., Suzuki, M., and **Sakano, H.**: Odorant receptor-derived cAMP signals direct axonal targeting. *Science* **314**, 657-661 (2006).

Tsuboi, A., Miyazaki, T., Imai, T., and **Sakano, H.**: Olfactory sensory neurons expressing class I odorant receptors converge their axons on an antero-dorsal domain of the olfactory bulb in the mouse. *Eur. J. of Neurosci.* **23**, 1436-1444 (2006).

Miyamichi, K., Serizawa, S., Kimura, H.M., and **Sakano, H.**: Continuous and overlapping expression domains of odorant receptor genes in the olfactory epithelium determine the dorsal/ventral positioning of glomeruli in the olfactory bulb. *J. Neurosci.* **25**, 3486-3592 (2005).

Serizawa, S., Miyamichi, K., Nakatani, H., Suzuki, M., Saito, M., Yoshihara, Y., and **Sakano, H.**: Negative feedback regulation ensures one receptor – one olfactory neuron rule in mouse. *Science* **302**, 2088-2094 (2003).

Nakatani, H., Serizawa, S., Nakajima, M., Imai, T., and **Sakano, H.**: Developmental elimination of ectopic projection sites for the transgenic OR gene that has lost the zone specificity in the olfactory epithelium. *Eur. J. Neurosci.* **18**, 2425-2432 (2003).

ホームページ等

<http://www.biochem.s.u-tokyo.ac.jp/sakano-lab/>