

平成21年 5月31日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19500267
 研究課題名（和文） キイロショウジョウバエ嗅覚神経細胞のクラス特異的な軸索
 投射様式の分化機構の解明
 研究課題名（英文） Investigating the mechanisms regulating the class-specific
 axonal projection of the *Drosophila* olfactory receptor neurons
 研究代表者
 遠藤 啓太（ENDO KEITA）
 東京大学・分子細胞生物学研究所・助教
 研究者番号：40425616

研究成果の概要：キイロショウジョウバエの嗅覚神経細胞は50種類のクラスに分化し、それぞれクラス特異的な匂い受容体を発現するとともに、その軸索を脳の一次嗅覚中枢のクラス特異的な領域へと投射することで脳内に匂い情報の空間地図を構築している。この多様な神経クラス分化とクラス特異的な軸索投射を制御する分子機構を明らかにするため、いくつかの候補遺伝子について、その遺伝子の変異が嗅覚神経細胞の神経クラス分化と軸索投射に与える影響を解析した。その結果、RUNXファミリーの転写因子 Lozenge、EGFR シグナル伝達に関わる遺伝子群、および、Evi1 原癌遺伝子のショウジョウバエにおける相同遺伝子 *hamlet* が、それぞれ特定のクラスの嗅覚神経細胞の分化と軸索投射に関わることを明らかにした。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学・神経科学一般

キーワード：神経クラス分化、嗅覚神経細胞、RUNX、EGFR、Notch

1. 研究開始当初の背景

キイロショウジョウバエの嗅覚神経細胞は50種類のクラスに分化し、それぞれクラス特異的な匂い受容体を発現するとともに、その軸索を脳の一次嗅覚中枢のクラス特異的な領域へと投射することで脳内に匂い情報の空間地図を構築している。本研究代表者の以前の研究によって、50種類の嗅覚神経細胞は24種類のクラスターに分けられ、個々のクラスターは単一の前駆細胞に由来

する2～4個の嗅覚神経細胞から構成されていることが明らかになっていた。さらに、単一のクラスターを構成する嗅覚神経細胞は、その発生過程におけるNotchシグナルの活性化の違いによって、それぞれ異なる神経クラスに分化することも明らかになっていた。しかし、個々のクラスターを構成する嗅覚神経細胞のクラスをさらに細分化する分子機構や、そもそも24種類のクラスターを分化させる分子機構については全く分かつ

ていなかった。

また、軸索投射を制御する分子機構についても、いくつかの既知の軸索ガイダンス分子やそのレセプターの関与が示されてはいたものの、そのクラス特異性を生み出す機構については、やはり、よく分かっていなかった。

2. 研究の目的

嗅覚神経細胞の50種類の神経クラス分化と、そのクラス特異的な軸索投射の制御機構を明らかにするために、以下の挙げる三つの機構についてそれぞれ関わる分子を明らかにし、それらの作用機序を解析することを目的とした。

(1) 個々のクラスターを構成する嗅覚神経細胞のクラスをさらに細分化する分子機構を明らかにする。

(2) 24種類のクラスターの違いを生み出す分子機構について明らかにする。

(3) これらの分子機構によって軸索投射がどのように制御されているのかを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 個々のクラスターを構成する嗅覚神経細胞のクラス分子の機構を明らかにするために、Notch シグナル系に関わることが知られている分子などに着目し、それらの神経クラス分化への関与を解析した。

(2) 個々のクラスターを構成する嗅覚神経細胞は、それぞれ単一の前駆細胞に由来することから、24種類のクラスターは、それぞれ、異なるタイプの前駆細胞に由来すると考えられる。そこで、前駆細胞の分化に関わることが予想される分子について、神経クラス分化への関与を解析した。

以上の候補遺伝子の解析は、まず、その遺伝子の変異をホモ接合にもつ嗅覚神経細胞のクローンをヘテロ接合個体中に作出し、それら変異クローンから一次嗅覚中枢への軸索投射パターンを調べることで行った。一次嗅覚中枢の50個のクラス特異的な領域は全て明確に同定できるため、変異クローンの投射を野生型細胞のパターンと比べることで、その遺伝子が、特定のクラスの分化や軸索投射に関わっているかどうかを調べることができる。さらに、変異クローンにおいて様々なクラスの嗅覚受容体の発現を調べることで、その遺伝子が特定のクラスの嗅覚神経細胞の分化に必要であることを直接確かめた。

4. 研究成果

(1) Notch シグナル系に関わることが知られている分子のひとつとして、Evi1 原癌遺伝子のショウジョウバエにおける相同遺伝子 *hamlet* に注目した。*hamlet* は胚や幼虫の外感覚神経の分化において、Notch シグナルを調節することで細胞運命の決定に関わることが示唆されている。*hamlet* 変異クローンの投射パターンを解析した結果、発生過程で高いNotchシグナル活性を必要とする嗅覚神経細胞クラスのみが正常に分化し、低いNotchシグナル活性を必要とするクラスの分化が阻害された。この結果から、Hamlet 遺伝子産物はNotchシグナル活性を弱めることで、神経クラス分化を誘導していることが示唆された。

(2) 嗅覚神経細胞の前駆細胞の分化に関わる分子として、Runtファミリーに属する転写因子をコードする *lozenge* 遺伝子、およびEGFR シグナル伝達に関わるいくつかの遺伝子が同定できた。これらの遺伝子の変異クローンの軸索投射パターンを解析した結果、それぞれ特定のクラスの嗅覚神経細胞の分化/軸索投射に異常が見られた。これら二つの遺伝子変異によって異常が見られた神経クラスを比較したところ、どちらの遺伝子変異においても異常が見られる神経クラス、どちらか一方の変異でのみ異常が見られるクラス、および、どちらの変異においても異常が見られないクラスが存在した。したがって、これらの遺伝子を介した神経分化の機構が組み合わさることで、神経クラスの多様性が生み出されていることが示唆された。

lozenge 遺伝子に関しては、その温度感受性変異系統を用いて遺伝子産物の活性を段階的に変化させることで、遺伝子産物の量と分化する神経クラスとの関係について解析を行った。その結果、神経クラスによって分化に必要な *Lozenge* 遺伝子産物の量が異なることが明らかになった(図1)。したがって、*Lozenge* 遺伝子産物の量の差異に依存して神経クラスを多様に分化させる機構の存在が示唆された。

また、*Lozenge* が嗅覚神経細胞のクラス分化に関わる発生時期を明らかにするため、*loenge* 遺伝子の温度感受性変異株を用いて *Lozenge* の活性を発生過程の異なる時期にON/OFFさせ、神経クラス分化に与える影響を解析した。その結果、*Lozenge* の機能は発生期の触角原基において嗅覚神経細胞の前駆細胞が分化する時期に必要であることが示された。したがって、「*Lozenge* の発現量が約400個の前駆細胞の間で異なり、その結果として異なる嗅覚神経細胞クラスが生み出されている」ということが示唆された(図2)。

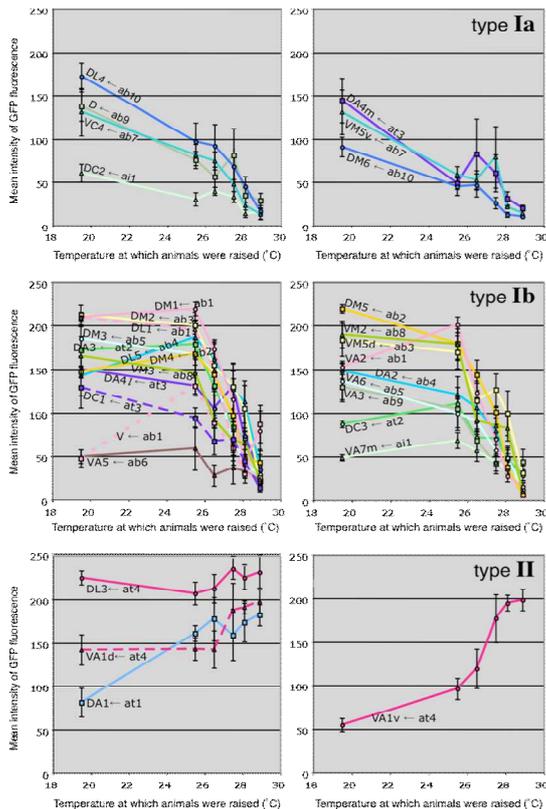


図1 Lozenge 遺伝子産物量と神経クラス分化の相関

そこで、前駆細胞での Lozenge の発現を免疫組織染色法によって解析したが、残念ながら、触角原基の異なる領域において分化する前駆細胞の間で Lozenge の発現量に著しい差は見られなかった。今後、異なる発生時期に分化する前駆細胞の間で Lozenge の発現量を比較することで、その量依存的な細胞分化機構の詳細が明らかになることが期待される。

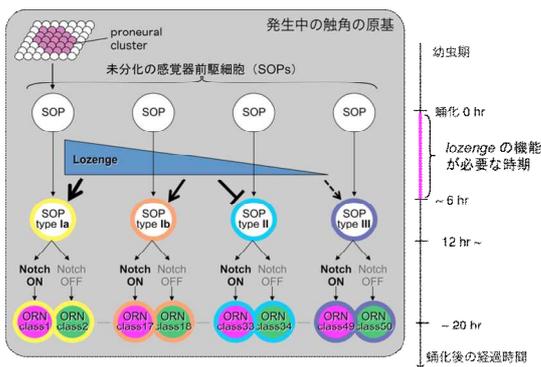


図2 Lozenge は量依存的に前駆細胞の運命を決定する

EGFR をコードする遺伝子、およびシグナルカスケードの下流で働く転写因子をコードする *pointed* と *yan* 遺伝子について、その変異をもつ嗅覚神経細胞のクローンからの軸索投射パターンを解析した。その結果、

EGFR 自身の変異では、ほぼ全ての神経クラスからの投射が見られなかった。この結果は、EGFR シグナルが、クラス分化以前に前駆細胞の増殖などのより普遍的な発生現象に関わっていることを示している。したがって、今後、温度感受性変異株を利用し、発生時期を限定して EGFR の機能を解析する必要があると考えられる。また、*pointed* と *yan* 遺伝子の変異では、それぞれ特定の神経クラスの軸索投射に異常が見られた。したがって、EGFR シグナル系が嗅覚神経細胞のクラス分化に関わることが裏付けられた。しかしながら、その作用機序の詳細の解析については今後の研究が待たれる。

以上の研究結果は、50種類の神経クラスを生み出す分子機構の詳細を明らかにするには至っていないが、そこに関わる重要な分子群を同定し、その作用機序を示唆することができた。このことは、今後、詳細な神経クラス分化機構を解析する上で重要な足がかりになると思われる。また、本研究結果によって同定された遺伝子群は、全て脊椎動物に相同遺伝子を持っていることから、脊椎動物の神経クラス分化においても同様の分子機構の関与が想定される。したがって、本研究結果は、将来的には、より普遍的な神経クラス分化機構の解明に貢献するものであると思われる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表](計 7件)

遠藤啓太, キイロショウジョウバエの Runt ファミリー転写因子 Lozenge は発現量依存的に異なるクラスの嗅覚神経細胞の分化を誘導する、第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会、平成20年12月9~11日、神戸・ポートアイランド

遠藤啓太, A *Drosophila* Runt family transcription factor, Lozenge, specifies the olfactory receptor neuron class in a dose dependent manner、12th European *Drosophila* Neurobiology Conference、平成20年9月6~10日、ドイツ・ウィルツブルグ

遠藤啓太, A Runt family transcription factor Lozenge is differentially required for distinct classes of the olfactory

sensory neurons in *Drosophila*,
第 31 回日本神経科学大会、平成 20
年 7 月 9~11 日、東京・東京国際フ
ォーラム

遠藤啓太、A Runt family
transcription factor is
differentially required for
distinct classes of the olfactory
sensory neurons in *Drosophila*,
第 41 回日本発生生物学会大会、平成
20 年 5 月 28~30 日、徳島・徳島県郷土
文化会館

遠藤啓太、A Runt Family
Transcription Factor *Lozenge* is
Differentially Required for
Distinct Classes of the Olfactory
Receptor Neurons in *Drosophila*,
CDB Symposium 2008: Turning
Neurons into a Nervous System、平
成 20 年 3 月 24~26 日、神戸・理研 CDB

遠藤啓太、A runt family
transcription factor is
differentially required for
distinct classes of the olfactory
receptor neurons in *Drosophila*,
CSHL meeting: Neuronal Circuits,
From Structure To Function、平成
20 年 3 月 13~16 日、米国・コールドス
プリングハーバー

遠藤啓太、Searching for mechanisms
that diversify the olfactory
receptor neurons in *Drosophila*,
第 30 回日本神経科学大会、第 50 回
日本神経化学会大会、第 17 回日本
神経回路学会大会合同大会、平成 19
年 9 月 10~12 日、横浜・パシフィコ横
浜

6. 研究組織

(1) 研究代表者

遠藤 啓太 (ENDO KEITA)
東京大学・分子細胞生物学研究所・助教
研究者番号：40425616

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし