

令和 6 年 5 月 29 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20H03354

研究課題名（和文）社会的な脳を形成する神経活動依存的な機構の解明

研究課題名（英文）Neural activity-driven processes in the development of the socialized brain

研究代表者

中嶋 藍（Nakashima, Ai）

東京大学・大学院薬学系研究科（薬学部）・助教

研究者番号：60706331

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,600,000円

研究成果の概要（和文）：感覚入力（嗅覚）は神経回路の形成と機能発現に重要であるが、その分子機構は不明な点が多い。本研究は、社会性行動との関連が深いマウス嗅覚系をモデルに、匂い入力（嗅覚）が遺伝子発現を介して神経回路の発達・機能を制御するメカニズムの解明を目指した。網羅的遺伝子発現解析により、匂い入力は発達段階に応じて異なる遺伝子セットの発現を誘導し、それが嗅球神経回路の構造・機能の発達基盤となることが示唆された。また、発達段階に関わらず、匂い入力に依存して発現変動する遺伝子群には恐怖行動の制御に関わる遺伝子が多く含まれていたことから、これらの遺伝子を介して匂い情報に意味づけがなされ、社会性行動の制御に寄与している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、嗅覚入力（嗅覚）が嗅球僧帽・房飾細胞の遺伝子発現に与える影響を明らかにし、発達段階に応じて入力依存的に変動する遺伝子群の機能が異なることを示した。これは、嗅覚系の発達過程における経験依存的な神経回路の構築や再編成のメカニズムの理解に貢献する重要な知見である。また、嗅覚入力依存的な遺伝子発現制御が、匂い情報の意味づけや恐怖行動の制御に関与している可能性を示唆しており、嗅覚情報処理や匂いに対する行動制御の神経基盤の解明につながる意義がある。

研究成果の概要（英文）：development and regulating various biological functions, from innate to social behaviors. However, the precise mechanisms for input-dependent neural circuit development remains unclear. By using the mouse olfactory system as a model, this research aimed to uncover how sensory inputs regulate gene expression in neurons and contribute to the development of neural circuits that underlying social behaviors. We found that olfactory inputs regulate gene expression in a developmental stage-specific manner, which forms the basis for the structural and functional development of olfactory circuits. Specifically, we found that olfactory inputs play an important role in the regulation of genes related to emotional behaviors such as fear and anxiety. These findings contribute to our understanding of how sensory inputs regulate gene expression during neural circuit development and the subsequent development of social behavior.

研究分野：発生神経学

キーワード：回路形成 遺伝子解析 情動・行動

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

神経細胞はその形態、神経伝達物質、遺伝子発現パターンなど多様性に富んでおり、この多様性に基づく神経回路形成を通じて多様な行動出力を生み出すことに大きく影響している。神経細胞の多様な個性は遺伝的な要因に加え、自発的あるいは感覚入力に応じて生じる神経活動によって規定される。特に、臨界期と呼ばれる回路の可塑性が高い時期において、外界からの入力は神経細胞の個性獲得・回路の形成に大きな影響を与えることが知られている。しかし、感覚入力やそれに伴う神経活動が遺伝子発現を介してどのように神経回路の発達を制御するのかについては不明な点が多く残されている。

嗅覚は多くの哺乳類において社会性行動と密接に関連しており、嗅覚系は感覚入力依存的な神経回路発達の分子機構と社会性行動とのリンクを解明するための優れたモデルである。嗅球は嗅覚情報処理の一次中枢に相当し、匂い分子受容体を発現する嗅細胞の軸索から入力を受け、投射ニューロンである僧帽細胞および房飾細胞がさらに高次脳領域へと情報を伝達する(図1)。先行研究において、変異マウスにおいて見られることから、しかし、匂い入力がどのように嗅球ニューロンの遺伝子発現を制御し、社会行動の基盤となる嗅覚関連機能の発達を促すのかは明らかになっていない。

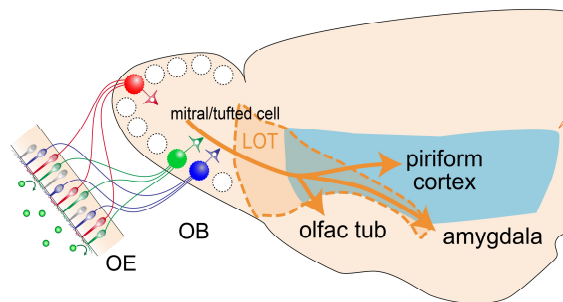


図1 マウス嗅覚系回路概略図

匂い分子は嗅細胞の表面に提示される嗅覚受容体を活性化させ、その情報は軸索を介して嗅球へと送られる。嗅球で処理された匂い情報は僧帽細胞あるいは房飾細胞の軸索を介してさらに高次脳領域へと伝達される

2. 研究の目的

嗅球は匂い情報処理の一次中枢であり、匂い分子受容体から入力を受けた嗅細胞の軸索から僧帽・房飾細胞へと情報が伝達される。僧帽・房飾細胞は嗅球からの唯一の出力細胞であり、匂い情報を高次脳領域へと送る役割を担っている。したがって、僧帽・房飾細胞の機能や結合特性は嗅覚情報処理や匂い依存的な行動発現に大きな影響を与えたと考えられた。

そこで本研究では、僧帽・房飾細胞に着目し、発達過程で経験する嗅覚入力が、これら細胞の遺伝子発現プロファイルにどのような影響を与えるのかを明らかにすることを目的とした。幼若期および成熟期のマウスを対象に、片側の鼻孔を閉じることで片側の嗅球への入力を遮断し、神経活動依存的な遺伝子発現制御機構を解明することを目指した。さらに、僧帽・房飾細胞において嗅覚入力依存的に発現が変動する遺伝子群の同定とその機能の解明を通して、嗅覚系の発達過程における経験依存的な神経回路の構築や再編成のメカニズムを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

嗅球の僧帽細胞・房飾細胞特異的に発現する転写物を単離するために、我々は、特定の細胞タイプにおける発現遺伝子を検出する方法として **RiboTag** 法を活用した。**Ribotag** 法とは、**Cre** 組み換え酵素依存的にリボソーム蛋白質 (**Rpl22**) が **HA** エピトプタグ標識されるように設計されたマウスを用いる手法である。この手法では、組織破砕液から免疫沈降により **Cre** 発現細胞のみからリボソーム結合 mRNA を迅速に単離する事が可能である。**Pcdh21-Cre** ドライバマウスと **RiboTag** マウスを交配し、僧帽細胞・房飾細胞で **HA** タグ **Rpl22** を発現するマウスを作成した(図2)。

匂い入力が僧帽細胞・房飾細胞の遺伝子発現に及ぼす影響を検証する手法としては、片側鼻孔閉塞 (**UNO**) を実施した。**Pcdh21-Cre/Rpl22HA** マウスを用い、出生後の異なる発達段階(幼若

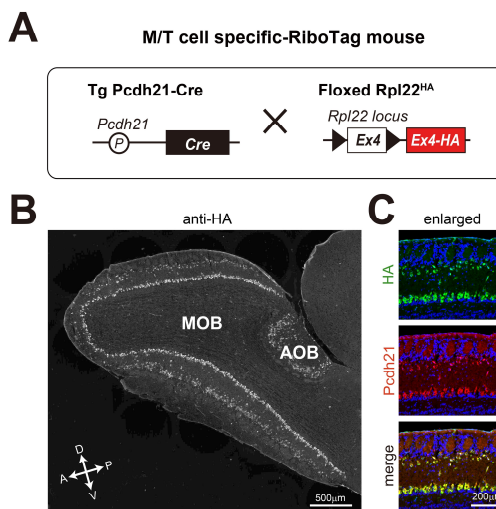


図2 Pcdh21Cre/ Rpl22HA マウスの作出

期：生後 2 週齢、成体期：生後 8 週齢）で片側の鼻腔を閉鎖することで匂い入力进行操作した。匂い入力操作の 4 週間後、Ribo タグ法により僧帽細胞・房飾細胞の mRNA を回収し、次世代シーケンサーによる RNA-seq を行うことで、網羅的な遺伝子発現解析を行った。さらに、バイオインフォマティクス解析により、匂い入力に依存して僧帽細胞・房飾細胞で発現変動する遺伝子群を同定し、それらの生物学的機能や関連する神経回路の発達プロセスを推定した。さらに、発達段階を通じて共通して変動する遺伝子群に着目し、社会性行動の制御との関連を考察した。

4. 研究成果

(1) 匂い入力依存的な遺伝子発現変化は神経回路形成の様々な局面に関与する

Pcdh21Cre/ Rpl22HA の嗅球切片に対して抗 HA 抗体を用いた免疫染色を実施した結果、HA タグの発現は僧帽細胞・房飾細胞の存在する層特異的に発現することが確認され、予想通り、HA シグナルは嗅球の **VGlut1/Pcdh21** 陽性ニューロンにほぼ特異的に検出された（図 2B,C）。そこで、このマウスを用いて RiboTag 法を用いて UNO 後のマウス嗅球僧帽・房飾細胞特異的に mRNA を単離し、RNA-seq による網羅的な発現解析を行った。その結果、片側鼻孔閉塞により、嗅覚入力有無により僧帽・房飾細胞の遺伝子発現プロファイルが大きく変化することが明らかになった（図 3）。これらの変化は、嗅覚入力が増加する僧帽・房飾細胞の遺伝子発現を制御していることを示しており、嗅球における神経活動依存的な遺伝子発現制御の存在を裏付けるものである。

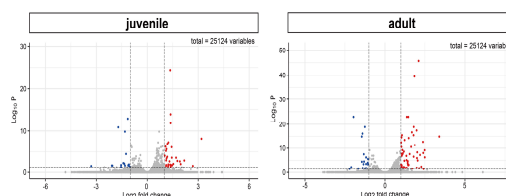


図 3 入力依存的な発現変動遺伝子の解析

(2) 匂い入力は発達段階特異的に神経回路形成関連遺伝子の発現を制御する

匂い入力に依存して発現が変動した遺伝子セット（発現変動遺伝子群）について、生物情報学的な解析を行い、どのような機能やパスウェイが特に変動しているかを検証した。発現変動遺伝子群の Gene Ontology 解析の結果を比較すると、幼若期では成熟期とは異なり血管・リンパ管形成に関わる遺伝子群が入力依存的に変動するのに対し（図 4 上）、成熟期ではホルモン応答や温度刺激への応答に関わる遺伝子群が変動することが明らかとなった（図 4 中）。これらの結果から、発達の異なる時期に入力に応じて発現する遺伝子群を通じて恒常性の維持や環境への適応を担うことが推察される。これらの結果から、匂い入力は発達段階に応じて異なる遺伝子セットの発現を誘導し、それが嗅球神経回路の段階的な発達/適応を促していると考えられる。

(3) 匂い入力依存的な発現変動を示す遺伝子群は社会性行動の制御に関与する可能性がある
興味深いことに、幼若期・成熟期に共通して匂い入力に依存して発現変動する遺伝子群には、恐怖行動の制御に関わることが知られている遺伝子が有意に多く含まれていた（図 4 下）。嗅覚系は先天的な恐怖行動の制御に重要な役割を果たすことを考慮すると、これらの遺伝子を介して匂い情報の意味づけがなされ、社会性行動の制御に寄与している可能性が示唆される。本研究の知見は、感覚入力依存的な遺伝子発現制御が、恐怖行動から社会性行動に至る情動・認知の発達基盤の形成に関与することを示唆している。

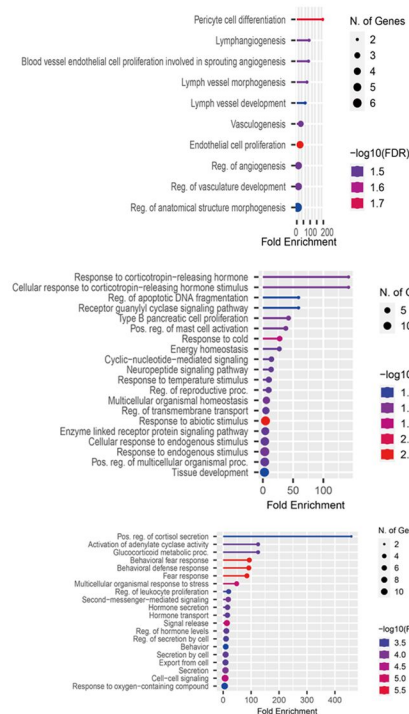


図 4 発現変動遺伝子の GO 解析

本研究は、嗅覚系をモデルとして、感覚入力が発達段階特異的な遺伝子発現制御を介して神経回路の構造的・機能的発達を形作る分子基盤となることを明らかにした。さらに、匂い入力依存的な遺伝子発現変化、特に恐怖行動制御に関わる遺伝子群の発現変化が、匂い情報への意味付けを行い、社会性行動の制御に関与する可能性を示した。本研究の知見は、感覚入力依存的な遺伝子発現制御が社会性を含む情動・認知機能の神経基盤の発達を促す分子メカニズムの理解に、新たな洞察を与えるものと期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Onodera, J., Nagata, H., Nakashima, A., Ikegaya, Y., Koyama, R.	4. 巻 69
2. 論文標題 Neuronal brain-derived neurotrophic factor manipulates microglial dynamics.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Glia	6. 最初と最後の頁 890-904
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/glia.23934	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakashima, A., Ihara, N., Ikegaya, Y., Takeuchi, H.	4. 巻 S0168-0102(20)
2. 論文標題 Cell type-specific patterned neural activity instructs neural map formation in the mouse olfactory system.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 30397-7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neures.2020.06.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyawaki, T., Morikawa, S., Susaki, E. A., Nakashima, A., Takeuchi, H., Yamaguchi, S., Ueda, H., Ikegaya, Y.	4. 巻 11
2. 論文標題 Visualization and molecular characterization of whole-brain vascular networks with capillary resolution.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1104
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-020-14786-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 2件/うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Ai Nakashima, Yuji Ikegaya, Haruki Takeuchi
2. 発表標題 Cell Type-Specific Patterned Neural Activity Instructs Neural Map Formation in the Mouse Olfactory System
3. 学会等名 Gordon Research Conference（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ai Nakashima, Yuji Ikegaya, Haruki Takeuchi
2. 発表標題 Cell Type-Specific Patterned Neural Activity Instructs Neural Map Formation in the Mouse Olfactory System
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Meeting (Molecular Mechanism of Neural Connectivity) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Nakashima A.
2. 発表標題 Cell type-specific patterned neural activity instructs neural map formation in the mouse olfactory system.
3. 学会等名 The 43rd annual meeting of the Japan Neuroscience Society (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takeuchi H., Nakashima A., Ihara N., Ikegaya Y.
2. 発表標題 Cell-type specific patterned activity specify gene expression patterns for olfactory circuit formation
3. 学会等名 International Symposium on Olfaction and Taste (ISOT) 2020 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nakano R.(D1), Ihara N., Morikawa S., Nakashima A., Kanemaki M., Ikegaya Y., Takeuchi H.
2. 発表標題 Auxin-mediated rapid degradation of targeted proteins in neurons.
3. 学会等名 International Symposium on Olfaction and Taste (ISOT) 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------