

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 28 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2012～2014

課題番号：24680035

研究課題名(和文) 成体脳新生ニューロンのシナプス結合様式の解明

研究課題名(英文) Synaptic connection of newborn neurons in the adult brain

研究代表者

今吉 格 (Imayoshi, Itaru)

京都大学・白眉センター・准教授

研究者番号：60543296

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 21,100,000円

研究成果の概要(和文)：生後脳の海馬と嗅球における、ニューロン新生の機能的意義の一端が明らかになった。海馬の生後ニューロン新生の破綻が精神疾患や発達障害の病態に関与している可能性がある事や、嗅球の生後ニューロン新生が嗅覚神経回路可塑性に積極的に関与している事が明らかになった。今後は、ニューロン新生の発達障害や神経回路可塑性との関与について、神経回路レベルでのより詳細な理解に繋がりたいと考えている。

研究成果の概要(英文)：We found the functional significance of neurogenesis in the postnatal hippocampus and olfactory bulb. We hope we can analyze further the function of neurogenesis in the postnatal and adult brain.

研究分野：神経発生学

キーワード：ニューロン新生

## 1. 研究開始当初の背景

従来、ニューロンの産生は発生期においてしか行われないと考えられていたが、ヒトを含めた哺乳類の生後脳・成体脳においても神経幹細胞が存在し、側脳室周囲の脳室下帯や海馬・歯状回といった特定の領域では、ニューロンの新生が一生涯続いている事が解ってきた。生後脳において新たに産出される多くの新生ニューロンは既存の神経回路に組み込まれるが、このようなニューロン新生が個体にとってどのような生理的意義を持っているのかはほとんど明らかになっていない。我々の研究グループはこれまで、ニューロン新生を遺伝的に操作できる遺伝子改変マウスを作成し、ニューロン新生の機能的意義の一端を明らかにしてきた。例えば、海馬のニューロン新生は、空間記憶の長期維持に必要なことや、嗅球のニューロン新生は、先天的忌避臭への応答行動などに関与している事を示してきた。しかし、これらはニューロン新生の機能的意義の一部を明らかにしたに過ぎないと考えられた。

## 2. 研究の目的

本研究課題では、遺伝子改変マウス技術を駆使して新生ニューロンを特異的に遺伝子操作し、生後脳・成体脳ニューロン新生が、脳神経回路の形成・修飾や維持に果たす役割を解明する事を目標としている。特に、新生ニューロンがどのような作用機序で既存の神経回路に影響を与えるのかに着目している。これまではジフテリア毒素を用いて、嗅球と海馬の両方のニューロン新生を除去する遺伝子改変マウスモデルを用いてきたが、このマウスモデルを用いた実験では、海馬と嗅球のニューロン新生の異常のどちらが、観察された表現型の原因になっているか不明であるという問題があった。この問題を解決するために、海馬と嗅球のニューロン新生のどちらか一方だけを遺伝的に操作できるマウス

モデルが必要であると考えられた。

## 3. 研究の方法

海馬・歯状回の新生ニューロンはグルタミン酸トランスポーターである VGLUT1 を発現するグルタミン酸作動性ニューロンである。VGLUT1 の遺伝子座から、Cre による組み換え依存的に、シナプス放出を阻害するテタヌス毒素 (TeNT) が発現するようなノックインマウスを作製した。これらのマウスと mGFAP-Cre マウスとのダブル Tg マウスを作製する事で、海馬・歯状回の新生ニューロンを選択的に阻害する事が可能になる。なぜなら、生後脳・成体脳での嗅球の新生ニューロンは GABA 作動性であり、VGLUT1 を発現していないからである。また、mGFAP-Cre マウスは胎児期の神経幹細胞では組換えを誘導せず、生後脳の神経幹細胞から組換えを誘導できることが知られている。

このモデルマウスの行動学的解析を行い、マウスの出生後すぐから海馬・歯状回の新生ニューロンを特異的に機能阻害すると、発達障害や精神疾患とニューロン新生の破綻の関係を示唆するような実験結果が得られた。例えば、自発活動性を評価するオープンフィールドテストやホームケージ観察において、生後脳ニューロン新生阻害マウスは、コントロールマウスに比べて、顕著に活動性の増加が観察された。行動テストバッテリーのほとんどのテストにおいて、ニューロン新生阻害マウスは活動性の亢進を示した。

また、Cliff-avoidance テストの結果から、ニューロン新生阻害マウスでは、衝動性が亢進している事が確認された。さらには、8方向放射状迷路(ラディアルメイズ)を用いたテストにおいて、ワーキングメモリーの障害が確認された。

興味深い事に、試行途中に delay を挿入し、課題を強制的に一定時間中断させた後に、

顕著なフェノタイプが見られた事から、注意や集中の持続に障害がある事が示唆された。

嗅球においても、生後脳・成体脳ニューロン新生が継続しているが、嗅球新生ニューロン特異的に遺伝子操作を行うために、Cre/LoxP と Flp/Frt システムを併用した intersectional genetics を採用した。

すでに、Cre/LoxP システムを利用し、Rosa26 遺伝子座などから様々なエフェクターたんぱく質を発現するマウスが広く利用されている。しかしながら、Cre/LoxP システムだけでは、細胞種特異性に限界があり、意図しない神経細胞集団でも組換えが起こり、エフェクターたんぱく質が発現してしまう。このため、本プロジェクトにおいて、Cre の組換えに加えて、Flp 組換え酵素の組換えを必要とする、ダブルストップカセットを持つ Rosa26 ノックインマウスを開発した。

Intersectional genetics を適応して、嗅球の生後脳・新生ニューロンを特異的に阻害したマウスでは、柔軟な嗅覚関連学習が損なわれている事が明らかになった。コントロールマウスと嗅球ニューロン新生阻害マウスともに、光学異性体の関係にある匂い物質を識別し、学習する事ができる。しかしながら、初めに報酬（砂糖）と関連させて記憶させた匂い物質から、他方の匂い物質に報酬を変化させると、コントロールマウスでは初めとは違う匂い物質に報酬が移った事を学習し対応することができたが、ニューロン新生阻害マウスでは、以前のすでに報酬のない匂い物質に引き寄せられ続けて、報酬の移動に対応できなかった。すなわち、嗅球への新生ニューロンの供給が途絶えると、容易な匂い学習は成立するが、柔軟な匂い学習が損なわれることが明らかになった。

この柔軟な匂い学習の異常の原因を調べるために、嗅球の電気生理学的解析を行った。嗅球の生後脳新生ニューロンを特異的に阻

害したマウスでは、嗅球の主要な投射ニューロンである、Mitral cell の反回/側方抑制が形成されていない事が明らかになった。さらに興味深い事に、成体脳のニューロン新生を阻害したマウスでも柔軟な嗅覚関連学習の障害や、Mitral cell の反回/側方抑制の減弱が観察された。成体脳において新生ニューロンが継続的に供給される事で、嗅球 GABA 抑制性の微小回路の維持・再編が可能になり、匂い情報処理や匂い情報の価値判断の最適化が可能になると考えられる。

#### 4 . 研究成果

生後脳の海馬と嗅球における、ニューロン新生の機能的意義の一端が明らかになった。海馬の生後ニューロン新生の破綻が精神疾患や発達障害の病態に関与している可能性がある事や、嗅球の生後ニューロン新生が嗅覚神経回路可塑性に積極的に関与している事が明らかになった。今後は、ニューロン新生の発達障害や神経回路可塑性との関与について、神経回路レベルでのより詳細な理解に繋がりたいと考えている。

#### 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）

〔雑誌論文〕(計1件)

Sakamoto, M., Ieki, N., Miyoshi, G., Mochimaru, D., Miyachi, H., Imura, T., Yamaguchi, M., Fishell, G., Mori, K., Kageyama, R. and Imayoshi, I.\* (2014) Continuous postnatal neurogenesis contributes to formation of the olfactory bulb neural circuits and flexible olfactory associative learning. *The Journal of Neuroscience* 34: 5788-5799.

〔学会発表〕(計 2 件)

International Symposium on “Sensory Systems and Neural Circuits” Celebrating the 22nd Anniversary of Odorant-Receptor Gene Discovery 東京大学本郷キャンパス赤門横・伊藤国際学術研究センター 2014 年 2 月 11 日

神経の再生と分化に関する国際シンポジウム Neurogenesis 2013 in Matsushima ホテル松島大観荘 2013 年 10 月 17 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者

今吉 格 (IMAYOSHI, Itaru)

京都大学・白眉センター・准教授

研究者番号：60543296

(2)研究分担者

( )

研究者番号：

(3)連携研究者

( )

研究者番号：