

自然環境において、動物は「危機」や「報酬」といった様々な意味を持つ無数の感覚刺激にさらされている。ダイナミックに変化する環境に対して適切な行動を選択するためには、感覚情報を記憶や脳の内部状態（意欲や覚醒レベルなど）と結びつけて修正したり、脳の内部状態を感覚情報によって変化させたりすることが重要となる。嗅覚神経系は主要な感覚神経系の一つであり、このような外部環境に対する行動の選択に重要な役割を果たしている。嗅覚刺激（匂いやフェロモンなど）の情報は、鼻腔において嗅覚受容体を発現する嗅神経細胞によって感知され、嗅球と呼ばれる脳領域へと伝達される。嗅球では嗅神経細胞の軸索と Mitral/Tufted 細胞と呼ばれる出力細胞の樹状突起がシナプスを形成し、糸球体と呼ばれる構造を形成する。この Mitral/Tufted 細胞は、嗅覚刺激に対する行動や学習に関わる piriform cortex、olfactory tubercle、cortical amygdala などの様々な高次脳領域へと軸索を投射している。嗅覚系は複数の「サブシステム」から構成されており、それぞれのサブシステムは嗅覚情報処理において、匂いの識別やフェロモンの認識など互いにオーバーラップしながらも特異的な機能を持つと考えられている。その背景として、各サブシステムに特異的な嗅覚受容体サブファミリーの発現や嗅球における投射パターンの違いなどが知られている。

GCD サブシステムはこのような嗅覚系サブシステムの一つであり、GCD 細胞と呼ばれる嗅神経細胞が cul-de-sac (袋小路) と呼ばれる嗅上皮の最も後方の領域に集積している。GCD 細胞は一般的な嗅覚受容体やその下流で働くシグナル分子を発現せず、このサブシステムで働く嗅覚受容体も不明であった。これまでに GCD サブシステムは摂食に関わる嗅覚学習に働くことが示唆されていたが、そのメカニズムや他の生理的機能の有無などについてはほとんど分かっていなかった。

当研究室は、この GCD 細胞における嗅覚受容体として MS4A ファミリーと呼ばれるタンパク質群を発見した。MS4A タンパク質は 4 回膜貫通型であり、脊椎動物における他のすべての嗅覚受容体は 7 回膜貫通型 G protein coupled receptor (GPCR) であることから構造的に全く異なっていた。さらに、他の嗅覚受容体は各神経細胞において 1 遺伝子由来の受容体のみが発現するのに対し (1 receptor per neuron)、GCD 細胞においては十数種の MS4A 分子が発現する (many receptors per neuron)。このユニークな受容体の発現様式は、GCD サブシステムが他のサブシステムとは大きく異なる機能を果たすことを示唆し

ている。さらに当研究室では、異所的に各 MS4A タンパク質を発現させたヒト培養細胞を用いて、複数の化合物を MS4A のリガンド候補として同定している。興味深いことに、それらの化合物は捕食者の排泄物に含まれる 2,5-dimethylpyrazine や、食物に含まれる長鎖不飽和脂肪酸、フェロモンに含まれるステロイドなど、マウスにとって「危機」や「報酬」といった生理的に重要な意味を持つと考えられるものであった。そこで私は、これら化合物の GCD 細胞に対する活性の有無を評価するため、嗅上皮の外植片を用いたカルシウムイメージング法の樹立を試みた。初めに、GCD 細胞特異的に GFP を発現するマウス系統を用いて、嗅上皮片にカルシウムインジケータを添加し、そこに化合物を加えた際の蛍光強度の変化により活性を評価した。しかしながら、この実験系ではリガンドに応答する細胞の割合が著しく低く、その原因として、GCD 細胞がインジケータを取り込む効率が非常に低いことや、外植片作製時における細胞の損傷やインジケータの添加によるダメージなどが考えられた。そこで、嗅上皮片ではなく嗅上皮全体の外植片を用いる方法、およびケミカルインジケータから遺伝的インジケータである GCaMP を用いる手法へと変更した（遺伝的インジケータの使用にあたっては、GCD 細胞を含む一部の嗅神経細胞のみで GCaMP を発現することを我々が見出した系統を用いた）。その結果、複数の化合物が GCD 細胞において特異的にカルシウム濃度の上昇を引き起こしたことから、これらの化合物が実際に GCD 細胞のリガンドとして機能することが明らかとなった。

上述したように、MS4A リガンドはその性質上マウスの行動に誘引や忌避などの影響を及ぼす可能性が示唆される。また、他の嗅覚刺激と結びつくことで嗅覚学習にかかわる可能性も考えられる。当研究室では深度カメラによるマウスの 3D pose dynamics と機械学習を用いた行動解析手法を開発しており、その手法を用いて MS4A リガンド存在下における行動パターンや嗅覚学習を詳細に解析する実験系を立ち上げている。さらに、現在 GCD 細胞特異的に Cre recombinase を発現するマウス系統を作製中であるため、行動実験と in vivo カルシウムイメージングやオプトジェネティクスを組み合わせることで、GCD サブシステムのマウスの嗅覚刺激に対する行動に果たす役割を明らかにしたいと考えている。

さらに、近年開発された Drop-seq と呼ばれる油滴内に単一細胞とバーコード DNA を閉じ込め、単一細胞由来の RNA をラベルすることで大量の細胞につい

て細胞個々のトランスクリプトーム解析を行う手法を導入し、嗅神経細胞における新たなサブタイプの同定や、サブシステム特異的な **Mitral/Tufted** 細胞の同定などを目指した実験も行っている。すでに、今まで知られていなかった嗅神経細胞集団の同定にも成功しており、今後はさらなる新規細胞集団の同定を目指すとともに、同定した集団に対し当研究室の特徴である多様な実験・解析系を組み合わせたアプローチを最大限に活用し、動物が嗅覚刺激に応答して適切な行動を選択するメカニズムを明らかにしていきたいと考えている。