



国立大学法人 福井大学  
TEL:0776-27-9733 (広報室)

独立行政法人 理化学研究所  
TEL:048-467-9272 (広報室)

国立大学法人 東京大学  
大学院理学系研究科  
TEL:03-5841-8856 (広報室)

## 刺激によらない GPCR 基礎活性の機能を初めて解明 — 嗅覚受容体の基礎活性による嗅神経回路の形成 —

### 本研究成果のポイント：

- ◆ G タンパク質共役型受容体 (GPCR) である嗅覚受容体が、外部刺激に依存しない基礎活性によって、神経回路構築を指令している事を明らかにした。
- ◆ ノイズと考えられていた GPCR の基礎活性が、生理学的に機能している事を示した初めての例である。
- ◆ 従来のセンサーとしての機能にのみ着目した GPCR の研究に、新たな展開を与えると期待される。

G タンパク質共役型受容体 (GPCR：注1) はヒトでは約 800 種類存在し、匂い、味、光といった外界の刺激や、ホルモン、神経伝達物質といった内因性の刺激を受容するセンサーとして細胞内に情報を伝達している。これまで、GPCR はそのセンサーとしての役割から、細胞外の刺激物質による活性化と、それによって引き起こされる生命現象を中心として研究が進められてきた。しかしながら、近年の研究から GPCR は外界の刺激がない状況においても低いレベルの活性である基礎活性 (注2) を持つことが明らかとなり、その生理学的意義の解明に注目が集まっていた。中嶋らは、GPCR の中でも約半数を占める嗅覚受容体ファミリーに着目し、遺伝子改変動物を用いた一連の実験から個々の嗅覚受容体が生み出す基礎活性が、嗅覚神経回路を形成する上で重要な役割を果たすことを見いだした。本研究の成果は、神経回路構築のメカニズムを明らかにするのみならず、GPCR の基礎活性の生理学的機能を明らかにした初めての例であり、今後の GPCR を標的とした研究分野すべてに新たな視点を与えるものである。

本研究は福井大学、東京大学、理化学研究所発生・再生科学総合研究センターの共同研究として、中嶋 藍 (福井大学医学部高次脳機能 学術研究員)、竹内春樹 (福井大学医学部高次脳機能 特命准教授) らを中心として行われました。今回の研究成果は、2013年9月12日 (米国東部時間) 発行の米国科学雑誌「Cell」に掲載されます。

## 〈研究の背景と経緯〉

匂い・光・味といった外界の刺激情報は、神経細胞において多様な GPCR によって検出され、精巧に組織された神経回路によって適切に処理され、様々な情動・行動を引き起こす。ヒトやマウスは嗅覚受容体(注3)を用いて数十万種類もの匂い物質を識別する。嗅覚受容体は GPCR の中でも約半数を占める巨大なファミリーであり、マウスにおいては約一千種類もの嗅覚受容体遺伝子が存在する。嗅上皮には約一千万個の嗅神経細胞(注4)が存在するが、それぞれは単一の嗅覚受容体を選択的に発現し、限定された匂い分子のみを検出する。嗅覚受容体によって検出された匂い情報は、電気パルスとして軸索と呼ばれる電線を通り、大脳前方に位置する嗅球(注5)へと入力される(図1)。嗅球には、糸球と呼ばれる構造が嗅覚受容体の種類に応じて約一千対存在しており、匂い情報の入力先となっている。従って、匂い情報は嗅球表面においては、約一千個からなる糸球を素子とする電光掲示板のような形で糸球の発火パターンとして画像化され、それを脳の中樞が読み取っていると考えられている。

この匂い情報を処理する嗅神経回路が構築される過程で、個々の嗅神経細胞で発現する嗅覚受容体が重要な役割を果たしている。このメカニズムに関しては、嗅覚受容体によって生み出されるシグナルの強度が軸索ガイダンス分子の発現量へと変換され、嗅神経回路の接続特異性を規定することが明らかとなってきた。しかし、約一千も存在する嗅覚受容体の種類の違いがどのようにして細胞内シグナルに反映されるのか、そのシグナルの起源が何であるのかは依然不明のままであった。

## 〈研究の内容〉

これまでの研究から、嗅覚受容体によって入力されるシグナルが嗅神経回路の形成に重要である事は知られていたが、嗅神経回路の特異性は生まれ育った匂い環境に依らず、個体間で良く保存されて形成される事から、嗅覚受容体がどの様にしてシグナルを入力しているのかは不明であった。GPCR である嗅覚受容体はこれまでセンサーとしての機能のみが注目されてきたが、近年、GPCR には刺激が存在しない状況下でも基礎活性が存在する事が明らかになってきた(図2)。そこで我々は、「嗅神経細胞の回路形成は外界の匂い物質に依らない嗅覚受容体の基礎活性によって制御されるのではないか？」という仮説を立て研究を行った。

刺激に依存しない嗅覚受容体の基礎活性が嗅神経回路の形成を制御するかを検証するためには、嗅覚受容体の基礎活性レベルを人為的に変化させ、嗅神経細胞の軸索投射にどのような影響が出るかを観察することが必要である。そこで我々は、嗅覚受容体と相溶性が高い GPCR である $\beta 2$ -アドレナリン受容体( $\beta 2$ -AR)をモデルに研究を行った。 $\beta 2$ -AR は最も機能解析が進んでいる GPCR であり、基礎活性レベルに違いのある変異体が多数同定されている。更に、 $\beta 2$ -AR は嗅覚受容体と同様に嗅神経細胞の軸索投射を制御出来る事が報告されていた。これらの利点を活用し、 $\beta 2$ -AR の基礎活性レベルを変化させた変異型 $\beta 2$ -AR が嗅神経細胞で発現する遺伝子改変マウスを複数作製した。その結果、基礎活性の低い変異型 $\beta 2$ -AR を発現する嗅神経細胞は野生型と比較して嗅球の前方に軸索を投射するのに対し、基礎活性の高い変異型 $\beta 2$ -AR を発現する嗅神経細胞はより後方に軸索を投射した。この結果から、嗅神経細胞の投射先は GPCR の基礎活性に基づいて決定される事が示唆された。

実際に嗅覚受容体の基礎活性が嗅神経細胞の軸索投射先と対応しているかどうかを確認するため、嗅球の前・中・後部に軸索を投射する嗅神経細胞で発現する嗅覚受容体についてそれぞれ基礎活性を測定した。その結果、嗅球前方に投射する嗅神経細胞で発現する嗅覚受容体の基礎活性は低く、嗅球後方に投射する嗅神経細胞で発現する

嗅覚受容体の基礎活性は高い傾向にある事が判明した。

我々は更にノックアウトマウスを用いた解析から、嗅覚受容体がセンサーとして機能する時期と、基礎活性を使って機能している時期とでは異なる G タンパク質が嗅覚受容体のシグナルを伝えている事を見出した。嗅覚受容体が匂いセンサーとして機能している成熟嗅神経細胞では  $G_{olf}$  と呼ばれる G タンパク質が機能しており、基礎活性には殆ど生じないのに対し、嗅神経細胞が軸索を投射している未成熟な時期では、 $G_s$  タンパク質が嗅覚受容体に作用し、効率良く基礎活性を拾い上げ、cAMP シグナル産生に結びつけている事も明らかにした(図 4)。

### 〈今後の展開〉

本研究およびこれまでの坂野グループの研究から、GPCR である嗅覚受容体が外部刺激に依存しない基礎活性によって、嗅神経回路の構築を制御している事が明らかになった。ヒトを含む高等動物の複雑な脳機能は、一千億個もの神経細胞が発生の過程で自身の細胞個性に従って互いにシナプスを形成し、精巧な神経回路網を構築することにより支えられている。従って、神経細胞の個性がどのようにして規定され、特異的な回路構築を達成するのか、その機構の解明は神経発生学における一大テーマとなっている。今回我々はマウス嗅覚系をモデルとして、嗅神経細胞の個性を規定するシグナルの起源が GPCR の基礎活性である事を世界に先駆けて明らかにした。この研究成果は他の神経系にも敷衍出来る可能性があり、複雑な脳のネットワークが構築される仕組みを理解する鍵になると期待される。一方本研究は、センサーとしての機能ばかりが注目されて来た GPCR が、刺激によらない基礎活性によって生理学的機能を果たす事を示した最初の例であり、創薬を始めとした GPCR の研究分野に新しい切り口を与え得ると予想される。

〈参考図〉

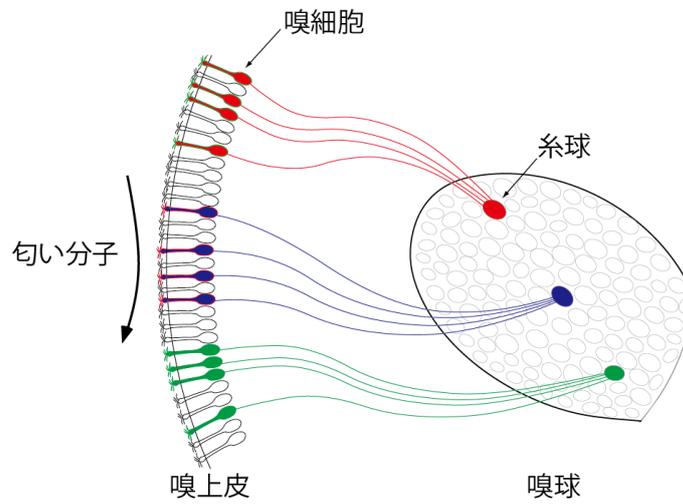
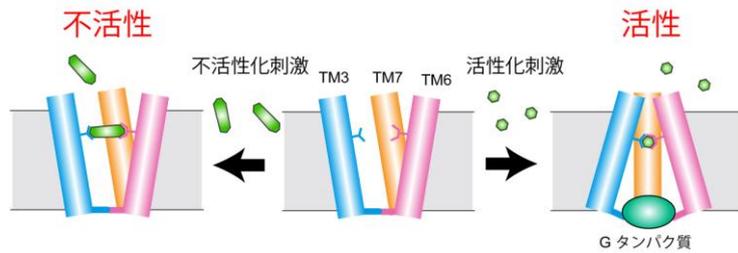


図1 マウス嗅覚系の匂い情報変換

活性化/不活性化刺激結合による GPCR 分子の構造変化



ゆらぎによる自発的な GPCR 分子の構造変化

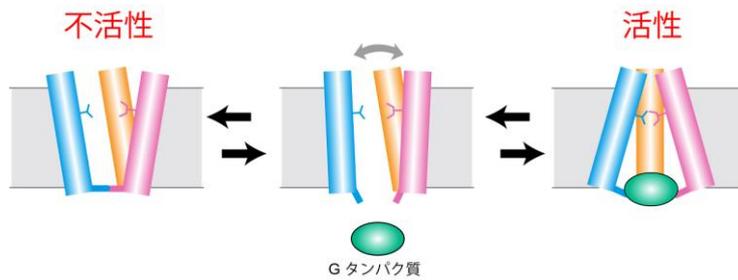


図2 刺激依存下（上図）あるいは非依存下（下図）における GPCR 分子の構造変化

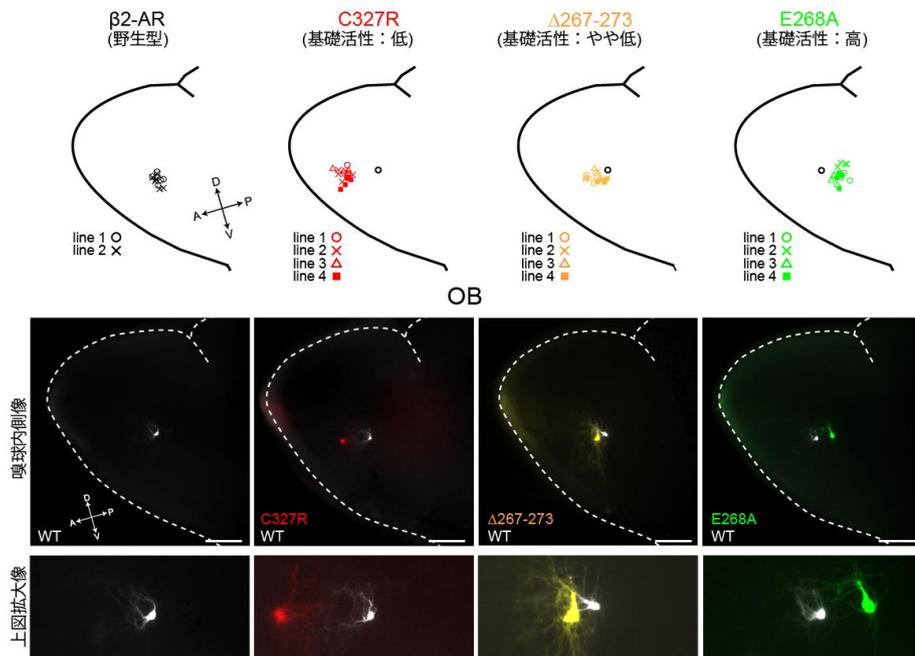


図3 GPCR基礎活性の高低による嗅神経軸索投射先の変化

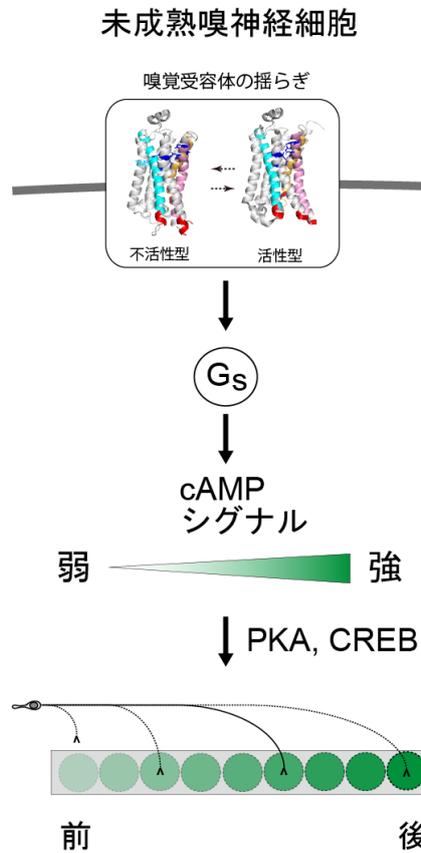


図4 嗅覚受容体の基礎活性が嗅神経細胞の軸索投射先を制御する

## 〈用語解説〉

- 注1) Gタンパク質共役型受容体：G protein-coupled receptor; GPCR。細胞膜を7回貫通する特徴的な構造から、7回膜貫通型受容体とも呼ばれる。GPCRは、匂い・味・光といった外界の刺激や、ホルモン・神経伝達物質といった内因性の刺激を受容して、そのシグナルを細胞内に伝えるが、その際Gタンパク質と呼ばれる分子を介してシグナル伝達が行われる。GPCRはヒトで約800種見つかり、全タンパク質中最大のスーパーファミリーを形成している。GPCRは多くの疾患に関与していることから、GPCRの研究は創薬の観点からも重要である。実際、現在使われている薬の約半数はGPCRを標的としている。このGPCRの機構を解明する上で重要な発見をしたブライアン・コビルカ博士とロバート・レフコウィッツ博士が2012年のノーベル化学賞を共同で受賞している。
- 注2) 基礎活性：GPCRはセンサータンパク質としての機能があり、刺激(アゴニスト)を検出した時にGタンパク質にシグナルを伝える。しかしながら、近年、刺激の存在しない状況下でも僅かながらシグナルが生じている事が報告されており、これを基礎活性と呼ぶ。これまで基礎活性は単なるノイズであると考えられてきたが、本研究により基礎活性にも生理学的機能がある事が初めて明らかになった。
- 注3) 嗅覚受容体：嗅覚受容体はGPCRの約半数を占める最大のファミリーで、匂い分子を検知するセンサーとして機能する。ヒトでは約350種類、マウスでは約1000種類の嗅覚受容体遺伝子が存在する。それぞれの嗅覚受容体は、それぞれ異なる匂い分子を検知する。2004年にリンダ・バック博士とリチャード・アクセル博士が、この受容体遺伝子の発見によりノーベル生理学・医学賞を受賞した。
- 注4) 嗅神経細胞：鼻腔の奥の嗅上皮と呼ばれる組織に存在する匂い分子を検知するセンサーとしての機能に特化した神経細胞。個々の嗅神経細胞は、単一の嗅覚受容体のみを選択的に発現する。
- 注5) 嗅球：大脳の最も前方部に存在する脳組織であり、嗅神経細胞が検知した匂い分子の情報が初めに伝達される領域である。嗅覚受容体による匂い分子の検出は、軸索を伝わって嗅球における糸球の発火パターンという画像情報に変換される。

## 〈論文タイトル〉

“Agonist-Independent GPCR Activity Regulates Anterior-Posterior Targeting of Olfactory Sensory Neurons”

(日本語タイトル:「嗅覚受容体の基礎活性による嗅神経回路の形成」)

## 〈著者〉

Ai Nakashima\*, Haruki Takeuchi\*, Takeshi Imai\*, Harumi Saito, Hiroshi Kiyonari, Takaya Abe, Min Chen, Lee S. Weinstein, C. Ron Yu, Daniel R. Storm, Hirofumi Nishizumi, Hitoshi Sakano

中嶋 藍 (福井大学 医学部 高次脳機能領域 特命研究員)

竹内春樹 (福井大学 医学部 高次脳機能領域 特命准教授)

今井 猛 (理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター チームリーダー)

西住裕文 (東京大学 大学院理学系研究科 生物化学専攻助教)

坂野 仁 (福井大学 医学部 高次脳機能領域 特命教授)

## 〈発表雑誌〉

「Cell」(セル) (2013年9月12日号に掲載予定: 巻数154、掲載ページ1314-1325)

DOI 番号: doi:10.1016/j.cell.2013.08.033

## 〈お問い合わせ先〉

(研究に関すること)

中嶋 藍 (なかしま あい)

竹内 春樹 (たけうち はるき)

国立大学法人 福井大学 医学部医学科高次脳機能領域

〒910-1193 吉田郡永平寺町松岡下合月 23-3

TEL: 0776-61-8851

(報道担当)

中川 和治

国立大学法人 福井大学 総合戦略部門 広報室

〒910-8507 福井市文京 3丁目9番1号

TEL: 0776-27-9733 E-mail: sskoho-k@ad.u-fukui.ac.jp

近藤昂一郎

独立行政法人 理化学研究所 広報室

〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1

TEL: 048-467-9272

武田加奈子、横山広美

国立大学法人 東京大学大学院理学系研究科・理学部

〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1

TEL: 03-5841-8856 E-mail: kouhou@adm.s.u-tokyo.ac.jp