

論文審査の結果の要旨

氏名 稲木 公一郎

本論文では、マウス嗅球における匂い分子構造認識領域 (molecular feature domain) の空間分布の解析について述べられている。

マウス嗅球において、個々の糸球はそれぞれ特定の一種類の匂い分子レセプターに対応していると考えられる。従って、嗅球糸球層を2次元展開したシートは、嗅球表面上での匂い分子レセプター地図、感覚地図を表している。

本論文において、論文提出者は、匂い分子刺激によって嗅球糸球層において誘導される神経活動をマップすることにより、このような匂い分子レセプター地図の構成の基本的な法則を解明することを目的としている。

嗅球糸球層での匂い応答のマッピングの方法として、immediate early gene の1種である zif268 遺伝子の発現誘導を神経活動のマーカーとして使用した。すなわち、匂い刺激により特定の糸球が活性化し、その糸球の周りに存在して、その糸球を通して嗅細胞からの入力を直接受け取っている juxtaglomerular cell (JG 細胞) 内で、Zif268 の発現が誘導されると考えた。実際の実験では、匂いを嗅がせたマウスの嗅球切片において、Zif268 遺伝子産物の発現を免疫組織化学法により検知した。一定の区分内の Zif268 陽性 JG 細胞数を数えて色で表現し、その情報を嗅球糸球層の2次元展開図上にプロットした。嗅球糸球層では、2種類の細胞接着分子、OCAM と Neuropilin-1 の発現パターンが個体間でよく保存されているので、それらの情報を展開図上に重ねあわせ、嗅球上の定点座標として利用した。

初めに、嗅球背側面において、内在性信号の光学的計測法 (optical imaging 法) によって測定される匂い応答の空間分布と、免疫組織化学法によって検知される JG 細胞での Zif268 の発現誘導の空間分布を比較した。まず、optical imaging 法により、propionic acid に応答する糸球の部位を記録し、その内の2ヶ所にマーカー色素を注入して、活性化部位をマークした。1週間後に、同じ匂い分子、propionic acid を使用して Zif268 マッピング法を行った。その結果、Zif268 シグナルの空間分布と、optical imaging 法で測定された匂い応答の空間分布がよく一致することがわかった。よって、Zif268 シグナルが、実際に匂い

刺激で誘導される嗅球糸球層での神経活動を反映していることがわかった。

次に、propionic acid で刺激した同じマウスの左右の嗅球、及び異なる2個体の嗅球での、Zif268 シグナルの空間分布を展開図上で比較した。多少の差はあるものの、調べた全ての嗅球において、匂い分子により誘導される Zif268 シグナルの空間分布が概ね保存されていることがわかった。よって、Zif268 マッピング法によって、別種類の匂い分子に対する応答の空間分布を、異なる個体を使用して比較検討することが可能である。

これらの結果をふまえて、炭素鎖長を体系的に変化させた3種類の脂肪酸、及び3種類の直鎖アルコールを匂い刺激として使用し、嗅球全体において、Zif268 シグナルをマップした。結果の要旨は以下の通りである。(1) それぞれの匂い分子は、嗅球外側、内側地図間で鏡像対称的に配置される、Zif268 シグナルのクラスターを概ね2対誘起した。(2) 嗅球背側面において、optical imaging 法により定義される molecular feature domain (同じ官能基を持つ匂い分子に応答する糸球がクラスター化して局在する嗅球上の領域) 及び、その極性 (匂い分子の炭素鎖長の変化に伴って、応答する糸球の場所がシフトする) が、Zif268 マッピング法でも検知される。(3) molecular feature domains は、嗅球上の決まった位置に存在する。(4) molecular feature domains は、嗅球の外側、内側感覚地図間で鏡像対照的に配置される。(5) 調べた全ての domains の極性の方向が概ね前腹側方向である。

以上の結果を基に、molecular feature domain、及びその一定の極性が、別個の方法によっても、決まった場所で一貫して観察されることから、molecular feature domain が嗅球上の匂い分子レセプター地図の構成における基本的な構造上の単位であることを示唆した。

また、全ての脂肪酸応答ドメイン、及び直鎖アルコール応答ドメインの極性の方向は、概ね嗅球の後背側-前腹側軸に平行であり、この軸は OCAM(+)/(-)ゾーン間の境界線の後部分に概ね平行であると推定された。さらに、全てのドメインは、後背側-前腹側軸上の特定の範囲内に局在していた。これらのことから、後背側-前腹側軸に沿った糸球の配置が、感覚地図を形作る上で重要な鍵の1つである可能性を示唆した。

以上のように、論文提出者は、optical imaging 法と Zif268 マッピング法を比較し、嗅球全体で Zif268 マッピング法を行い、さらに、その結果を OCAM と Neuropilin-1 の発現パターンと比較することにより、匂い分子レセプター地図の

構成に関して、いくつかの基本的で重要な法則を解明した。

本論文のうち、optical imaging 法による匂い応答の記録、及び、活性化部位へのマーカー色素の注入の実験は、それぞれ、東大大学院、医学系研究科、細胞分子生理学教室の大学院生である、高橋 雄二氏、及び永山 晋氏が執り行ったが、論文提出者が主体となって結果の解析、検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

従って、博士（理学）の学位を授与できると認める。