

特集：刺激受容における相互作用の発現機構のメカニズム

グルタミン酸受容体と嗅覚情報処理*

梶 秀 人**

(鹿児島大学農学部獣医学科家畜生理学教室)

I. はじめに

グルタミン酸は、脳における主要な伝達物質であるとともに、学習記憶の基礎過程と考えられているシナプスの可塑性や、種々の脳疾患との関連が示唆されている神経細胞死などに深くかかわっている。グルタミン酸受容体は、現在のところ、それ自身がイオンチャネルの機能を有するイオントロピック型とGタンパク質を介して細胞内情報伝達系に連結するメタボトロピック型とに大別される。イオントロピック型グルタミン酸受容体(GluR)は、さらにN-メチル-D-アスパラギン酸(NMDA)型、 α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate (AMPA)型、およびカイニン酸型の3つに分類され、これらの生理的・病理的意義については数多くの知見が集積されてきた。一方、メタボトロピック型グルタミン酸受容体(mGluR)については、中西らのグループ¹⁾によってはじめて、その分子の実体が明らかにされ、その後現在までに8つのサブタイプの存在が知られている²⁻⁴⁾。これらは、アミノ酸配列の相同性、アゴニスト選択性、およびセカンドメッセンジャーの違いから、mGluR 1とmGluR 5、mGluR 2とmGluR 3、mGluR 4とmGluR 6とmGluR 7とmGluR 8の3つのサブグループに分けられている。mGluR 1/mGluR 5はキスカル酸に、mGluR 2/mGluR 3は *trans*-1-aminocyclopentane-1, 3-dicarboxylate と (2S,1'S,2'S)-2-(carbox-

ycyclopropyl)glycine に、mGluR 4/mGluR 6/mGluR 7/mGluR 8はL-2-amino-4-phosphonobutyrateに最も反応する。mGluR 1/mGluR 5は、アゴニストに反応して、イノシトールリン脂質代謝を亢進させ、細胞内Ca²⁺を動員する。一方、その他のサブグループは、ホルスコリンによって誘導されるcAMPの産生を抑える。しかし、これらのmGluRの存在および分布が明らかにされてまだ日が浅く、現在、これらの生理的機能を解明すべく精力的な研究が展開されているところである²⁻⁴⁾。本稿では、鋤鼻嗅覚神経系の最初の中継点である副嗅球のグルタミン酸受容体に焦点を絞って、その機能に関する筆者らの解析の一端を紹介し、問題点や今後の展望について、他の報告例も交えながら論じてみたい。

II. 鋤鼻嗅覚神経系の構造と機能

鋤鼻嗅覚系では、鋤鼻器の嗅上皮で匂いが受容され、この情報は副嗅球でまず中継され、その後、扁桃体、分界条、内側視索前野を順次経て視床下部弓状核の隆起漏斗系ドーパミン神経分泌細胞へと送られる⁵⁾。雌マウスが雄の尿の匂いを嗅ぐと、鋤鼻嗅覚系が活性化されて、ドーパミンの下垂体門脈血中への放出量が増す。このドーパミン分泌の増加や、これに続くプロラクチンとプロジェステロンの分泌の低下により、幼若雌における性成熟の促進(Vandenbergh効果)、成熟雌における発情の誘導(Whitten

*平成8年7月5日受付

Glutamate receptors and olfactory processing.

**Hideto Kaba, Department of Veterinary Physiology, Veterinary Medical Science, Kagoshima University, Korimoto 1-21-24, Kagoshima 890 Japan

効果) および妊娠阻止 (Bruce 効果) が起こる。

第三番目の妊娠阻止は交尾相手の尿の匂いでは起こらない。交尾相手の雄の尿にも妊娠を阻止する匂いは含まれている。それにもかかわらず、交尾相手の雄の匂いが妊娠を阻止できないのは、実は雌マウスが交尾刺激を引き金としてこの匂いを記憶し、この記憶によって、この匂い情報の視床下部への伝達を阻止しているからである。つまり、雌マウスの脳は、記憶以前とは全く異なり、匂いを受容し、その情報を脳へ伝えようとする鼻とは逆の振舞いに転じたことになる。この脳の振舞い (可塑性) は、妊娠を中断させないために不可欠なので、生存価の高い脳機能ということになる。この記憶を支えるシナプスの可塑的变化は副嗅球で起こる⁹⁾。

III. 副嗅球における匂い情報処理

鋤鼻器で受容された匂い情報は副嗅球の僧帽細胞へ伝達される。この僧帽細胞は次の中継核である扁桃体へインパルスを送るが、このインパルスの頻度とパターンは副嗅球内の二つのレベルでの情報処理機構によって制御されている。一つは、僧帽細胞の主樹状突起が糸球体内で糸球体周辺細胞とつくっている樹状突起間シナプスを介した相反性相互作用があり、入力レベルの調節を行っていると考えられている。もう一つは、僧帽細胞の主樹状突起が外叢状層で顆粒細胞とつくっている樹状突起同士の双方向性シナプスを介した相反性相互作用があり、出力レベルの調節を行っていると考えられている。匂い受容に続いて興奮した僧帽細胞は、グルタミン酸かあるいはその関連物質を放出して顆粒細胞を興奮させる。興奮した顆粒細胞は、GABA を放出して僧帽細胞を抑制する。すなわち、中継ニューロンである僧帽細胞は顆粒細胞から負のフィードバック制御を受けているわけである。

IV. イオノトロピック型グルタミン酸受容体

鋤鼻器の単発刺激によって誘発される、副嗅球の僧帽細胞から顆粒細胞への興奮性シナプス伝達は、GluR、とりわけ AMPA/カイニン酸受容体によって媒介される⁷⁾。GluR と記憶との関連性が検討されている。記憶形成の臨界期に、GluR の非選択的なアンタゴニストである γ -D-glutamylglycine を 10 nmol、交尾直後から 45 分間隔で 6 回、副嗅球へ注入

すると、記憶形成が妨げられる⁹⁾。また、NMDA 受容体の選択的なアンタゴニストである D-2-amino-5-phosphonovalerate (D-AP 5, 10 nmol) と non-NMDA 受容体のアンタゴニストである 6, 7-dinitroquinoxaline-2, 3-dione (DNQX, 3 nmol) の混合液を 6 回注入しても記憶形成が妨げられる⁹⁾。ところが、D-AP 5 も DNQX も単独では記憶を阻害しないらしい。DNQX は記憶を阻害するどころか記憶形成へと導くという。このとき形成される記憶は、匂いに対する選択性を欠いている。一方、D-AP 5 は記憶を形成させない。これらの結果をもとに、Brennan⁹⁾ は次のように考察している。僧帽細胞から顆粒細胞への AMPA/カイニン酸受容体を介する興奮伝達が DNQX で遮断されると、僧帽細胞は顆粒細胞による抑制から解放されて活発に活動し、グルタミン酸を顆粒細胞に向けて放出する。このとき、顆粒細胞の AMPA/カイニン酸受容体は DNQX で遮断されているので活性化されないが、NMDA 受容体が活性化されて、このシナプスに可塑的变化を誘導する。すなわち、AMPA/カイニン酸受容体というよりはむしろ、NMDA 受容体の方が記憶形成に関わると Brennan は推察している。

V. メタボトロピック型グルタミン酸受容体

副嗅球の顆粒細胞の樹状突起には、GluR に加えて mGluR のサブタイプの一つである mGluR 2 が発現している¹⁰⁾。mGluR 2 の機能がスライスパッチクランプ法を用いて調べられている。パッチ電極により電位固定された僧帽細胞に、近傍の顆粒細胞を刺激すると、抑制性シナプス後電流 (IPSC) が誘起される。この電流はビキュキュリンで遮断されるので、僧帽細胞の樹状突起に存在する GABA_A 受容体チャネルの活性化による。mGluR 2/mGluR 3 に選択的なアゴニストとして (2S, 1'R, 2'R, 3'R)-2-(2, 3-dicarboxycyclopropyl)glycine (DCG-IV) が同定され、これを使って mGluR 2 を活性化しても、IPSC が抑制される。DCG-IV は、僧帽細胞に対す mGluR の抑制効果には無効であるとともに、自発性の miniature IPSC の振幅には影響を与えず、その平均頻度を抑制した。したがって、DCG-IV による mGluR 2 の活性化は顆粒細胞から GABA の放出を抑制すると結論される。以上の結果に基づいて、林らは大変興味あるモデルを提唱している (図 1)。

グルタミン酸受容体と嗅覚情報処理

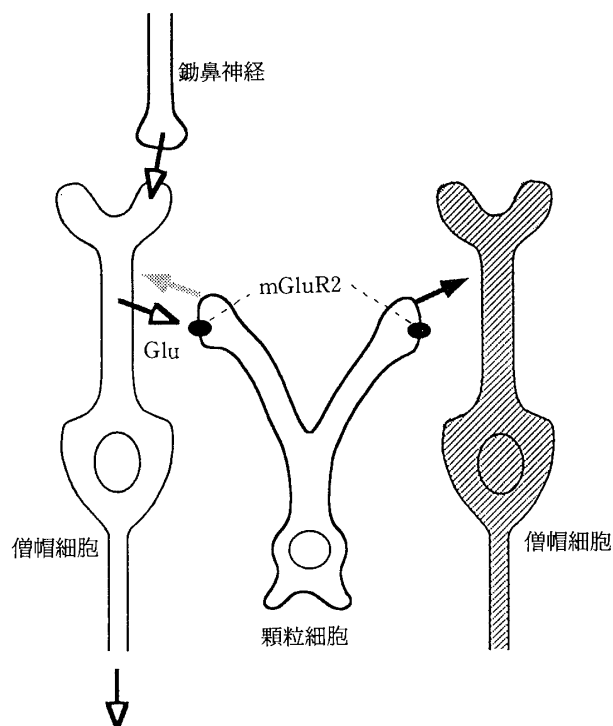


図1 mGluR2の活性化によるシグナルノイズ比の増大

鋤鼻器での匂い受容により興奮した副嗅球僧帽細胞（無地）は、グルタミン酸（Glu）を放出して、自己細胞とシナプス結合している顆粒細胞を興奮させるが、同時にmGluR2を活性化するのでフィードバック抑制を受けない。一方、周りの僧帽細胞（斜線）は、自己とシナプス結合している顆粒細胞樹状突起のmGluR2が活性化されないで側方抑制を受ける。白矢印は興奮性、黒矢印は抑制性を示す。

鋤鼻器での匂い受容により興奮した僧帽細胞は、次の中継核である扁桃体へインパルスを送るとともに、顆粒細胞を興奮させて近傍の僧帽細胞を側方抑制する。ところが、匂い情報を受け取り興奮した僧帽細胞自身は、mGluR2を活性化しているのでフィードバック抑制を受けない。したがって、匂い情報を受け取り興奮した僧帽細胞と周りの僧帽細胞との間のシグナルノイズ比が増大することになる。つまり、mGluR2は匂い情報を先鋭化して、匂いの識別に役立つというわけである。

筆者らはすでに、副嗅球のmGluR2をDCG-IVで活性化すると、交尾刺激なしで、そのとき嗅がせた匂いに選択的な記憶が形成されることを示している¹¹⁾。匂いに暴露させないでDCG-IV単独では記

憶は成立しなかったので、DCG-IVは匂い情報の入力と協力して記憶形成へと導いたことになる。mGluR2と協力して記憶形成へと導く情報分子がGluRかどうかを検討した。NMDA受容体の選択的なアンタゴニストであるD-AP5（500 pmol）をDCG-IVに混ぜて投与しても記憶形成は起こるが、non-NMDA受容体の選択的なアンタゴニストである6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione（500 pmol）を混ぜて投与すると記憶形成が阻止されるので、mGluR2とAMPA/カイニン酸受容体が協力して記憶を形成させていることになる。この結果は、AMPA/カイニン酸受容体というよりはむしろNMDA受容体が記憶形成に関わるとするBrennanの結果と符号しない。

mGluR2と協力して記憶形成へと導く情報分子が何であるかさなる検討が必要であるが、DCG-IVによって形成された記憶は交尾のときに形成される記憶の特徴を忠実に再現しており、このことはmGluR2が匂いの記憶の形成に重要であることを示唆している。ただし、作用は弱い、mGluR1/mGluR2のアンタゴニストである(+)- α -methyl-4-carboxyphenylglycineを10 nmol、交尾直後から1時間間隔で3回副嗅球へ注入しても記憶形成は阻止されない、交尾のときの記憶形成にmGluR2が必須の情報分子として機能しているか否か決着がつかっていない。

VI. ジーンターゲティングマウスの解析

最近の分子生物学の進歩は、特定の遺伝子を欠失させたマウスの作出を可能にし、生体機能の研究に威力を発揮している。脳機能の研究においてもしかりであり、遺伝子欠失が動物の行動にどのように反映されるかを解析することによって、分子・細胞レベルの知見を動物個体の行動と結び付けることが可能になったわけである。

横井ら¹²⁾は最近、ジーンターゲティングの手法によりmGluR2遺伝子に変異を導入し、mGluR2遺伝子の機能を欠損させた、いわゆる遺伝子ノックアウトマウスの作出に成功している。その方法の概略を述べる。mGluR2をコードするエクソンの上流部分をネオマイシン耐性遺伝子で置換し、mGluR2遺伝子の3'端にチミジンキナーゼ遺伝子をつなげたターゲティングベクターを作製した。129 Sv由来胚幹細胞（ES細胞）にベクターDNAをエレクトロポ

レーションにより導入し、ネオマイシン誘導体である G 418 による positive selection とガンシクロビルによる negative selection により相同組み換え体を濃縮した。正しく相同組み換えを起こした ES 細胞を C 57 BL/6 J の胚盤胞へ注入し、これを偽妊娠マウスの子宮に着床させ、キメラマウスを得た。得られたキメラマウスと BDF 1 雌との交配により F 1 を得た。F 1 のうちのヘテロミュータント同士の交配により野生型、ヘテロ、およびホモの F 2 マウスを得た。したがって、これらの F 2 マウスは、129 Sv、C 57 BL/6 J、および BDF 1 の遺伝的背景を持つことになる。

これらの mGluR 2 欠損マウスを解析すれば、図 1 のモデルや、交尾時の記憶形成に mGluR 2 が必須の情報分子として機能しているか否かが調べられる。図 1 のモデルに従えば、mGluR 2 欠損マウスにおいては、匂い情報を受け取って興奮した僧帽細胞は脱抑制されないため、十分なインパルスを視床下部へ送ることができないであろう。すなわち、雄の匂いによって雌に誘起される内分泌変化が起こりにくくなっていることが期待される。まず、雄の匂いによる幼若雌マウスの性成熟促進について検討した。幼若雌を生後 21 日から初回発情まで、Balb/c 雄マウスの匂いが染み着いた床敷きに毎日暴露させた。野生型マウスの初回発情の平均値は、非暴露群で 40.6 日、暴露群で 39.2 日、ホモマウスの初回発情の平均値は、非暴露群で 41.7 日、暴露群で 41.4 日であった。野生型、ホモともに暴露群と非暴露群との間に有意差は認められなかった。野生型においても雄の匂いによる性成熟の促進効果が認められなかったため、mGluR 2 欠損が雄の匂いによる性成熟にいかなる影響を及ぼすか評価することができなかった。この点に関して、匂いによる生殖内分泌効果にマウスの系統差があることが知られている¹³⁾。今回解析したマウスは、129 Sv、C 57 BL/6 J、および BDF 1 の遺伝的背景を持つ。129 Sv と C 57 BL/6 J の両系統とも匂いによる生殖内分泌効果が起こりにくい系統として報じられている。

今後の対策として、ホモマウスの副嗅球内情報処理能を電気生理学、神経化学、形態学的に解析する必要がある。今回のように、内分泌学的に解析するためには、匂いの効果が明白に認められる系統、たとえば Balb/c に mGluR 2 遺伝子の変異を乗せ換えることが必要である。

VII. おわりに

副嗅球の神経回路網は主嗅球のそれと多くの点で共通している。しかし、相違点もある。主嗅球の僧帽細胞は 1 本の主樹状突起を一つの糸球体に送るが、副嗅球の僧帽細胞は 2 本以上の主樹状突起を複数の糸球体に送り込んでいる。すなわち、副嗅球の場合、複数の糸球体からの情報が 1 個の僧帽細胞に収束するので、シグナルが増幅されることになる。増幅されたシグナルはさらに、mGluR 2 の活性化によって脱抑制されるので、持続することになる。鋤鼻嗅覚神経系は、発情などの内分泌変化を誘起する、いわゆる“動かす”神経系であることを考えると、mGluR 2 が担い得る役割は、鋤鼻嗅覚神経系の機能とマッチしている。

今後、正常およびノックアウト動物に、行動、電気生理、薬理、形態などの手法を有機的に適用して、鋤鼻嗅覚系の情報処理機構を明らかにして行きたいと考えている。

参考文献

- 1) Masu M, Tanabe Y, Tsuchida K, Shigemoto R and Nakanishi S: Sequence and expression of a metabotropic glutamate receptor. *Nature* 349, 760-765 (1991)
- 2) Hollmann M and Heinemann S: Cloned glutamate receptors. *Annu Rev Neurosci* 17, 31-108 (1994)
- 3) Nakanishi S: Molecular diversity of glutamate receptors and implications for brain function. *Science* 258, 597-603 (1992)
- 4) Pin JP and Duvoisin R: Review: Neurotransmitter receptors I The metabotropic glutamate receptors: Structure and functions. *Neuropharmacology* 34, 1-26 (1995)
- 5) Kaba H and Nakanishi S: Synaptic mechanisms of olfactory recognition memory. *Rev Neurosci* 6, 125-141 (1995)
- 6) Kaba H, Rosser A and Keverne B: Neural basis of olfactory memory in the context of pregnancy block. *Neuroscience* 32, 657-662 (1989)
- 7) Kaba H and Keverne EB: Analysis of synaptic events in the mouse accessory olfac-

グルタミン酸受容体と嗅覚情報処理

- tory bulb with current source-density techniques. *Neuroscience* 49, 247-254 (1992)
- 8) Brennan PA and Keverne EB: Impairment of olfactory memory by local infusions of non-selective excitatory amino acid receptor antagonists into the accessory olfactory bulb. *Neuroscience* 33, 463-468 (1989)
- 9) Brennan PA: The effects of local inhibition of N-methyl-D-aspartate and AMPA/kainate receptors in the accessory olfactory bulb on the formation of an olfactory memory in mice. *Neuroscience* 60, 701-708 (1994)
- 10) Hayashi Y, Momiyama A, Takahashi T, Ohishi H, Ogawa-Meguro R, Shigemoto R, Mizuno N and Nakanishi S: Role of a metabotropic glutamate receptor in synaptic modulation in the accessory olfactory bulb. *Nature* 366, 687-690 (1993)
- 11) Kaba H, Hayashi Y, Higuchi T and Nakanishi S: Induction of an olfactory memory by the activation of a metabotropic glutamate receptor. *Science* 265, 262-264 (1994)
- 12) Yokoi M, Kobayashi K, Manabe T, Takahashi T, Sakaguchi I, Katsuura G, Shigemoto R, Ohishi H, Nomura S, Nakamura K, Nakao K, Katsuki M and Nakanishi S: Impairment of hippocampal mossy fiber LTD in mice lacking mGluR 2. *Science* 273, 645-647 (1996)
- 13) Brown RE: The rodents I: effects of odours on reproductive physiology. In Social odours in mammals (Brown RE and Macdonald DW), Clarendon Press, Oxford, Vol. 1, pp. 245-344 (1985)