

**【目的】** ニューロモジュレーターは、樹状突起や細胞体上の G 蛋白質共役型受容体を介して、種々のリン酸化酵素を活性化させることで、比較的ゆっくりとしたタイムコースで、神経細胞の興奮性やシナプスの可塑性、遺伝子発現を制御していると考えられている。ドーパミンは、最も注目されているニューロモジュレーターの1つであり、側坐核の中型有棘神経細胞に働き、D1 受容体を介して PKA や MAPK (ERK) などの蛋白質リン酸化酵素を活性化する。これらの蛋白質リン酸化酵素は下流の基質蛋白質をリン酸化することで、神経細胞の興奮性や遺伝子発現を制御し、報酬関連行動とその学習・記憶の形成に貢献すると考えられている。しかしながら、ドーパミンがどのように遺伝子発現を制御し、報酬学習・記憶に関与しているのかについては不明な点が多い。本研究では、ドーパミンシグナルの下流でリン酸化される転写関連因子を網羅的に同定し、そのリン酸化による遺伝子発現の制御機構と報酬学習・記憶の制御機構を明らかにすることを目的とする。

**【方法および結果】** 報酬学習・記憶に関与する転写共役因子である CREB binding protein (CBP) を固相化したアフィニティカラムを用い、側坐核の中型有棘神経細胞で働く転写因子の網羅的同定を行った結果、Neuronal PAS domain protein 4 (Npas4) などの転写因子が同定された。Npas4 は MAPK によってリン酸化され、MAPK による Npas4 のリン酸化により Npas4 と CBP との結合量が増加した。Phostag-SDS PAGE を用いた解析により、MAPK による Npas4 のリン酸化部位 (T423、T427、S577、S580、T611、S615) を同定した。Npas4 の 427 番目のスレオニン残基のリン酸化を特異的に認識する抗体を作製し、細胞内での Npas4 のリン酸化を解析した結果、培養線条体神経細胞において脱リン酸化酵素阻害剤や cAMP 活性化剤により Npas4 のリン酸化が亢進し、そのリン酸化は MAP2K (MEK) 阻害剤により抑制された。BDNF プロモーターなどを用いたレポーター解析を行った結果、MAPK による Npas4 のリン酸化により Npas4 の転写活性が増強した。Npas4 が報酬関連の学習および記憶と関連しているかどうかを調べるために、コカインによる条件付け場所嗜好性試験を行った。その結果、側坐核の D1 受容体発現細胞で特異的に Npas4 を欠損させたマウスでは、報酬学習・記憶能の低下が認められた。Npas4 欠損による報酬学習・記憶能の低下が Npas4 の野生型を発現させることで回復出来たのに対し、Npas4 のリン酸化部位欠損変異体では回復できなかった。以上の結果から、Npas4 が MAPK によるリン酸化依存的に CBP と結合し、BDNF などの遺伝子発現を調節することで、報酬学習・記憶に関与することが示唆された (下図)。

MAPK による Npas4 リン酸化は遺伝子発現を調節することで、報酬学習・記憶を制御する

