

森 憲作

東京大学大学院医学系研究科・教授

匂いで誘起される意欲・情動行動の神経回路機構

§1. 研究実施の概要

平成21年度からの研究を平成22年度も引き継ぎ発展させ、以下の研究を完成させ論文報告した。

- (1) 機能が同定された嗅球ニューロン(僧帽細胞と房飾細胞)の嗅皮質各領野への軸索投射パターンを決定し、僧帽細胞と房飾細胞の機能的差異と軸索投射パターンの差異を見出した。
 - (2) 嗅球の「匂い分子受容体地図」と「匂い応答地図」との間に厳密な空間的対応関係があることを見出した。
 - (3) 嗅皮質の最も吻側部にある前嗅核の *pars externa* (AONpE)の神経回路は「匂い源の方向検知」に関与することを見出した。
 - (4) 徐波睡眠時に選択的に、嗅皮質において鋭波(Sharp Wave)が出現し、鋭波にともなう嗅皮質ニューロンの同期的活動は、嗅皮質から嗅球の顆粒細胞へとトップダウンに伝わることを見出した。
 - (5) 嗅球の顆粒細胞は成体においても新生し、既存の神経回路に組み込まれるかもしくは細胞死をおこして取り除かれることが知られている。我々のグループは、食後の睡眠・休息時に嗅球の新生顆粒細胞の除去が大きく増大することを見出した。
- (4)と(5)の研究により、嗅球や嗅皮質の神経回路の可塑的变化は、「覚醒時」の嗅覚経験に依存したメモリートレースの形成と、「その後の休息・睡眠時」での鋭波にともなう嗅皮質ニューロンの同期的活動による神経回路の再編の2段階で行われるモデルを提唱した。

§2. 研究実施体制

(1)「森」グループ(東京大学)

① 研究分担グループ長: 森 憲作 (東京大学大学院医学系研究科、教授)

② 研究項目

- 1) 嗅覚と意欲・情動行動の神経回路
- 2) 嗅覚神経回路の可塑的变化と再編

§3. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(4-1)に対応する)

(1) 機能が同定された嗅球ニューロンの嗅皮質各領野への軸索投射パターンの決定 (平成21年度から継続)

平成21年度に引き続き平成22年度においても、ラットを用いて「嗅球の糸球群の匂い応答の光学的測定法」、「応答糸球に属する僧帽細胞や房飾細胞からの単一細胞匂い応答記録法」、および「記録細胞へのトレーサー色素注入法」を組み合わせた実験手法を用い、機能を同定した僧帽細胞・房飾細胞の全軸索を染め出し、嗅皮質の各領域(嗅結節、前梨状皮質、後梨状皮質、扁桃皮質、前嗅核など)への軸索投射を3次元再構成することにより調べた。

これらの結果、同じ匂い分子受容体の情報を担当する僧帽細胞と房飾細胞は全く異なった軸索投射パターンを示すことが判明した。さらに、僧帽細胞と房飾細胞では、匂い入力に対する応答様式もことなることが分かった。これらの実験結果から、僧帽細胞と房飾細胞は、同じ匂い分子受容体の情報の異なった側面を担当し、嗅皮質の異なった部位にその情報を伝達することが分かった。(論文投稿中)

上記実験と並行して、同じ糸球に属する僧帽細胞と房飾細胞を染めだし、その軸索の投射パターンを2光子顕微鏡を用いて観察し、外側嗅索中での僧帽細胞軸索と房飾細胞軸索の配置の違いや、軸索側枝の投射方向の違いを見出した³⁾。

また、吉原研究室との共同研究により、TBx21 トランスジェニックマウスを作成し、嗅球の僧帽細胞とその軸索のみを選択的にラベルし、嗅皮質への軸索投射の可視化を可能にした⁷⁾。

(2) 嗅球の「匂い分子受容体地図」と「匂い応答地図」との間の対応関係の発見 (平成21年度から継続)

嗅球の「匂い分子受容体地図のゾーン構造やドメイン構造」と多くの「molecular feature クラスタ」がどのような空間的対応関係にあるのかは、これまで不明であった。本研究では、ゾーン・ドメイン構造が可視化された、classII-GFP トランスジェニックマウスを用いて、内因性信号の光学的測定法による糸球の匂い応答を記録し、両者の空間的対応関係を調べ、「molecular feature クラスタ」が「匂い分子受容体地図のゾーン構造やドメイン構造」の枠内に厳密に配置されていることを見出した¹⁾。

(3) 嗅皮質の最も吻側部にある前嗅核の pars externa (AONpE)の神経回路は「匂い源の方向検知」に関与することを見出した。 (平成21年度から継続)

ラットやマウスは匂い源が右方向にあるのか左方向にあるのかその嗅源定位をすることができるが、どのような神経メカニズムを用いているのかに関しては不明であった。本研究結果より、前嗅核 pars externa の個々のニューロンが、同側鼻孔からの匂い入力と対側鼻孔からの匂い入力を比較することにより、匂い源の方向検知に関与することを見出した²⁾。

(4) 徐波睡眠時に、嗅皮質において鋭波(Sharp Wave)が出現し、その活動は嗅皮質から嗅球へとトップダウンに伝わることを見出した。 (平成21年度から継続)

感覚入力が off-line 時の、嗅覚中枢ニューロンの動作原理を調べることが、本研究の第2の目的である。私達は、自由行動下のラットの嗅皮質からテトロード電極を用いて局所電場電位と多細胞単一細胞記録をおこない、ラットの行動状態(覚醒状態と睡眠状態)と嗅皮質の活動パターンを比較した。この結果、嗅皮質は徐波睡眠時に選択的に反復して Sharp Waves を出し、個々の Sharp Wave と同期して特定の嗅皮質ニューロン群が同期発火することを見出した。また Olfactory Cortex Sharp Waves (OC-SPWs) の Current Source Density 解析により、OC-SPWは、嗅皮質の錐体細胞の反回性 association fiber のシナプスにより嗅皮質で形成され、その活動は嗅皮質から嗅球へとトップダウンに伝わるということがわかった。また、嗅皮質から嗅球へと

むかうトップダウン経路を burst 刺激すると、嗅球顆粒細胞にLTPが誘発された。これらの結果より、OC-SPWs は、覚醒時の嗅覚経験に依存してその後の睡眠時に嗅皮質を起源として出現し、睡眠時におこる嗅皮質および嗅球の神経回路の再編に関与すると考えられる。

(5) 食後の睡眠・休息時に嗅球の新生顆粒細胞の除去が大きく増大することを見出した。(平成21年度からの継続)

嗅球の顆粒細胞は成体でも常時新生し、嗅球へと移動してくる。これらの新生顆粒細胞の約半数は、特定の臨界期に嗅球の神経回路内に組み込まれるが、残りの半数はアポトーシスをおこして除去される。またこの臨界期の嗅覚経験が、新生顆粒細胞の生存に大きな役割をもつことも知られている。私達は、新生顆粒細胞の除去が一日中いつでも起こるのではなく、食事後の睡眠や休息中に顕著に増大することを見出した。また、鼻閉をして嗅覚入力を遮断すると新生顆粒細胞の細胞死が増大するが、この増大も食後の睡眠中に選択的に起こることがわかった。新生顆粒細胞の除去は嗅球神経回路の再編時におこると予想されることより、嗅球の神経回路の再編が覚醒中の睡眠時に起こることを示唆している。(論文投稿中)

(6) マウス成体における継続的なニューロン新生が、捕食動物忌避行動、性行動、育児行動などの嗅覚に依存した先天的行動反応に必要であることを見出した。

影山研究室との共同研究により、嗅球のニューロン新生が起こらないミュータントマウスにおける嗅覚行動を解析し、継続的なニューロン新生および嗅球神経回路への組み込みが、捕食動物忌避行動、性行動、育児行動などの嗅覚に依存した先天的行動反応の形成に必要不可欠であることを見出した⁸⁾。

§4. 成果発表等

(4-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

- 1) Matsumoto, H., Kobayakawa, K., Kobayakawa, R., Tashiro T., Mori, K., Sakano, H. and Mori, K.: Spatial arrangement of glomerular molecular-feature clusters in the odorant-receptor-class domains of the mouse olfactory bulb. *J. Neurophysiol.*103: 3490-3500 (2010). doi: 10.1152/jn.00035.2010
- 2) Kikuta S., Sato, K., Kashiwadani H., Tsunoda, K., Yamasoba, T and Mori K.: Neurons in the anterior olfactory nucleus pars externa detect right and left localization of odor sources. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107: 12363-12368 (2010). doi: 10.1073/pnas.1003999107
- 3) Nagayama, S., Enerva A., Fletcher M.L., Masurkar A.V., Igarashi, K., Mori, K., Chen W.R.: Differential axonal projection of mitral and tufted cells in the mouse main olfactory system. *Frontiers in Neural Circuits* 4: 1-8 (2010).
- 4) Imayoshi, I., Sakamoto M., Yamaguchi, M., Mori, K. and Kageyama, R.: Essential roles of Notch signaling in maintenance of neural stem cells in the developing and adult brains. *J. Neurosci.* 30(9):3489-3498 (2010). doi: 10.1523/JNEUROSCI.4987-09.2010
- 5) Matsuda, I., Fukaya, M., Nakao, H., Nakao, K., Matsumoto, H., Mori, K., Watanabe,

- M. and Aiba, A.: Development of the somatosensory cortex, the cerebellum, and the main olfactory system in Semaphorin 3F knockout mice. *Neurosci Res.* 66(3):321-329 (2010). doi:10.1016/j.neures.2009.12.001
- 6) Tsuboi, A., Imai, T., Kato, H.K., Matsumoto, H., Igarashi, K.M., Suzuki, M., Mori, K. and Sakano, H.: Two highly homologous mouse odorant receptors encoded by tandemly-linked MOR29A and MOR29B genes differently respond to phenyl ethers. *European Journal of Neuroscience* 33(2): 205-213 (2011).
 - 7) Mitsui, S., Igarashi, K.M., Mori, K. and Yoshihara, Y.: Genetic visualization of the secondary olfactory pathway in Tbx21 transgenic mice. *Neural Systems and Circuits* 1: 5 (2011). doi:10.1186/2042-1001-1-5
 - 8) Sakamoto, M., Imayoshi, I., Ohtsuka, T., Yamaguchi, M, Mori, K. and Kageyama, R.: Continuous neurogenesis in the adult forebrain is required for innate olfactory responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (2011) (in press)
 - 9) Manabe, H., Kusumoto-Yoshida, I., Ota, M. and Mori, K. Olfactory cortex generates synchronized top-down inputs to the olfactory bulb during slow-wave sleep. *J. Neurosci.* (2011) (in press)