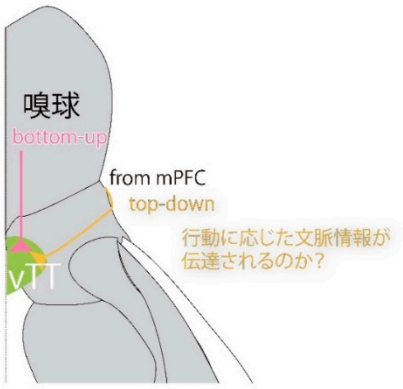
122　感覚情報に意味を持たせる神経メカニズム	塩谷　和基

【目的】我々は、その時の状況（文脈）に依存して感覚情報を処理し適切な行動を取る。しかし、文脈に応じて感覚情報を正しい行動に結びつける神経メカニズムはいまだ十分解明されていない。そこで私は、シンプルな解剖学的特性を持つ嗅覚系に着目し、特に末梢の感覚器官からの入力と適切な行動に必要な高次領域からの入力の双方を受ける嗅皮質を対象として、感覚ー行動を結ぶ神経メカニズムの解明に取り組んだ。これまでの私の研究として、嗅皮質の一亜領域である ventral tenia tecta（vTT）の神経細胞が文脈に依存した動物の行動状態に対して応答することを見出した。そして vTT が高次領域である medial prefrontal cortex（mPFC）から解剖学的な直接入力を受けていることから、vTT で見られる行動状態に対する文脈依存性の応答は、mPFC からの入力を反映したものであるという仮説を立てた。そこで本研究ではこの仮説を検証し、嗅皮質の vTT が高次領域である mPFC から受ける文脈情報の解明と伝達機構を解明することを目的とした。

【方法】特定波長の光を照射することでオプシンというたんぱく質を発現させた神経細胞の活動を人工的に抑制することができる光遺伝学的手法と単一の神経活動を記録する方法を組み合わせることで、vTT の行動状態の情報が mPFC からもたらされるかどうかを確かめた。具体的な方法として、まず、mPFC の神経細胞に特定波長の光を照射することで発現ニューロンを抑制させるオプシンであるアーキロドプシンをアデノ随伴ウィルスベクター用いて発現させた。マウスが深静麻酔下で、数本のテトロードと光ファイバーを目的の脳部位である vTT に挿入を行い、極小マイクロドライブをマウス頭蓋に安定的に固定させた。マウスが匂いから適切な行動を取るように、匂いと報酬の有無を連合させた嗅覚古典的条件付け課題を行った。1 回の行動課題の中でこれらの匂い刺激をランダムに提示し、匂い刺激と報酬の有無を連合しているのかについて、遅延区間における報酬を予測したマウスの舐め行動を基に判定を行った。こうした嗅覚古典的条件付け課題遂行中に、mPFC→vTT への入力の情報について光遺伝学的手法を用いて人為的に制御し、vTT 神経活動を記録することで mPFC→vTT に行動状態の情報が送られるかどうかを明らかにした。

【結果】マウスが匂いから適切な行動を取るように、匂いと報酬の有無を連合させた嗅覚古典的条件付け課題の訓練を行った。訓練後、マウスが行動課題遂行中に、mPFC から vTT へと投射する mPFC 神経細胞の軸索を特定のタイミングで光抑制し、その際の vTT の活動を記録することで、mPFC から vTT に行動状態の情報が送られるのかどうかを明らかにした。結果として、これまでの自身の研究で見られたように、嗅覚古典的条件付け課題においても vTT の神経活動は、光抑制を行わない条件では文脈に依存した様々な行動に対して応答する神経細胞が見られた。こうした応答特性を持つ細胞に対して、mPFC から vTT へと投射する mPFC 神経細胞の軸索を光抑制することによって、光抑制を行わない条件に比べて vTT 神経細胞の活動が減ることが明らかとなった。これらの結果から、mPFC から vTT に行動状態の情報が送られていることが明らかとなった。

末梢の嗅球と mPFC からの入力を受ける vTT との関係性



122. 感覚情報に意味を持たせる神経メカニズム

塩谷　和基

*立命館大学 生命科学部 生命情報学科 脳回路情報学研究室

Key words：ventral tenia tecta（vTT），内側前頭前野（medial prefrontal cortex），嗅皮質，感覚統合，細胞外記録

緒　言

突然、部屋から焦げ臭さを感じた時には、とっさに火元や匂い源を確認する。しかし、家族の誰かが料理をしているような状況（文脈）であれば、同じ匂いを感じてもそのような行動はとらない。このような、文脈に基づき感覚入力を行動出力に正しく結びつけるための神経回路の働きは、動物の生存においてきわめて重要である。しかし、末梢からの感覚情報が文脈に応じた意味を持つためには、高次領域からの情報と統合されなければならないが、どこでどのように情報統合が行われるのかはほとんど不明である。これまで感覚入力と高次領域からの入力の統合は、比較的高次の情報処理段階で行われると考えられてきた［1］。しかし、情報処理が高次な段階へ進めば進むほど、感覚情報の持つ意味が不明瞭となるという問題があった。そこで私は、嗅覚系に注目することで、その問題を回避できると考えた。嗅覚は五感の中で唯一、感覚受容器からの入力が、視床を経由せずに、一次中枢である嗅球から二次中枢の嗅皮質へ最短でわずか1シナプスで到達するというシンプルな解剖学的構造をもつ［2］。さらに、二次中枢である嗅皮質は、嗅球からの匂い入力を受けるだけでなく、適切な行動を取るために必要な文脈情報を担う高次領域からの入力を受ける亜領域も存在する［3］。

私は、これまでに嗅皮質の一部である ventral tenia tecta（vTT）という亜領域が高次領域である medial prefrontal cortex（mPFC）から解剖学的な直接入力を受けていること（図 1a）、また vTT の個々の神経細胞が、文脈に依存した様々な行動状態に対して応答することを明らかにした （図 1b）［4］。またこれまでに、mPFC を中心とした回路で文脈情報が作られていることもわかっている［5］。それらのことから、嗅球からの入力と mPFC からの入力の両方を受ける vTT は、感覚情報と文脈情報を統合する重要な場であることが容易に想像できる。そこで本研究は、文脈に応じて感覚情報を正しい行動に結びつける神経メカニズムを明らかにするために、嗅覚の情報処理を明らかにすることが重要であると考え、嗅皮質の機能解明の研究に取り組んできた。そこで本研究は、嗅皮質の vTT が高次領域である mPFC から受ける文脈情報の解明と伝達機構を解明することを目指す。

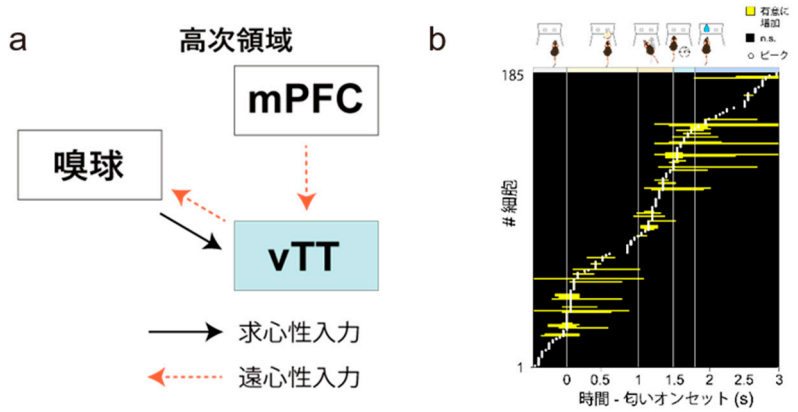


図 1. vTT の解剖学的接続と生理学的応答特性

a） vTT と低次領域である嗅球と高次領域である mPFC の解剖学的接続関係の概略。

b） 文脈依存の行動状態に対する vTT 生理学的応答。

*現在の所属：名古屋大学 大学院生命農学研究科 応用生命科学専攻

方　法

1. mPFC→vTT 投射の神経軸索抑制

本研究では、自身のこれまでの研究における vTT と mPFC 入出力関係（図 1a）と vTT の文脈依存の行動状態に対する応答特性（図 1b）から mPFC→vTT への投射経路が、文脈に基づいた行動情報を vTT に供給しているという仮説を立てた。

この仮説を検証するために、特定波長の光を照射することでオプシンというたんぱく質を発現させた神経細胞の活動を人工的に抑制することができる光遺伝学的手法と単一の神経活動を記録する方法を組み合わせることで、vTT の行動状態の情報が mPFC からもたらされるかどうかを確かめた。具体的な方法として、まず、mPFC の神経細胞に特定波長の光を照射することで発現ニューロンを抑制（アーキロドプシン：Arch3.0）させるオプシンをアデノ随伴ウィルスベクターを用いて発現させた（図 2a）。Arch3.0 は、細胞内プロトンイオンを細胞外に排出するプロトンポンプで、緑色光（560 nm）の光を当てることで活性化され、細胞膜を過分極にシフトさせ活動電位を抑制（光抑制）することが可能となるオプシンである。マウスが深静麻酔下で、数本のテトロードと光ファイバーを目的の脳部位である vTT に挿入を行い、極小マイクロドライブをマウス頭蓋に安定的に固定させた。

2. 嗅覚古典的条件付け課題

マウスが匂いから適切な行動を取るように、行動制御用機器を用いて匂いと報酬の有無を連合させた嗅覚古典的条件付け課題を行った（図 2b）。嗅覚古典的条件付け課題では、嗅覚に文脈情報を付与させるために、ある試行では、1 s 間の匂い A の嗅覚刺激提示後、1 s の遅延区間を設け、報酬である水を提示した。別の試行では、1 s 間の匂い B の嗅覚刺激提示後、1 s の遅延区間を設け、報酬は提示しない条件とした。1 回の行動課題の中でこれらの匂い刺激をランダムに提示し、匂い刺激と報酬の有無を連合しているのかについて、遅延区間における報酬を予測したマウスの舐め行動を基に判定を行った。こうした嗅覚古典的条件付け課題遂行中に、mPFC→vTT への入力の情報について光遺伝学的手法を用いて人為的に制御し、vTT 神経活動を記録することで mPFC→vTT に行動状態の情報が送られるかどうかを明らかにした。

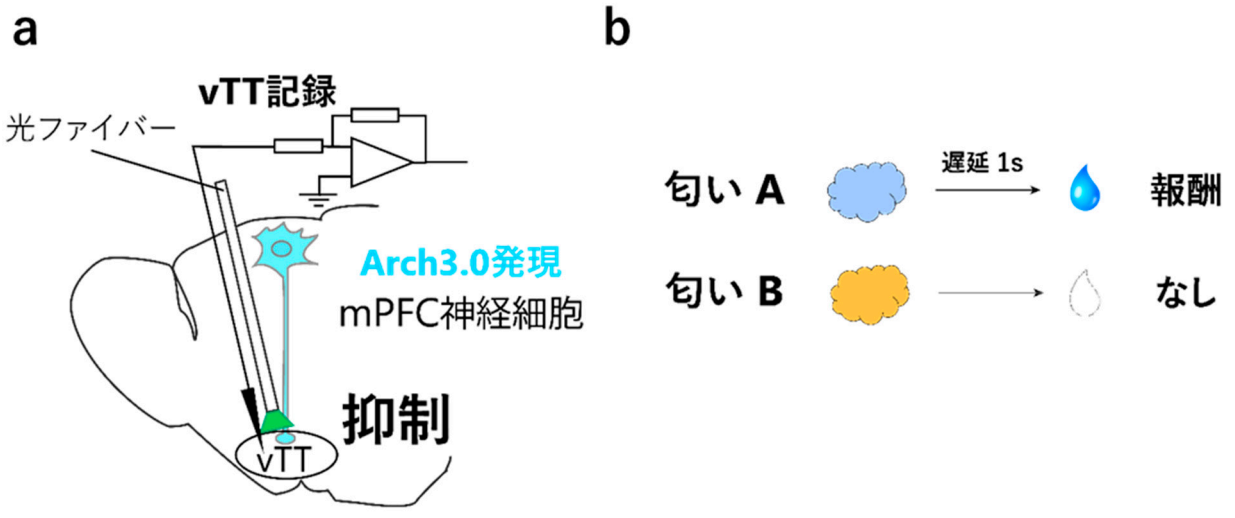


図 2. 嗅覚古典的条件付け課題中の mPFC→vTT 投射の神経軸抑制

a) mPFC→vTT 投射の神経軸抑制実験の概略図。

b) 嗅覚古典的条件付け課題の概略図。

結　果

1. mPFC から vTT に行動状態の情報が送られるかどうかを解明

マウスが匂いから適切な行動を取るように、匂いと報酬の有無を連合させた嗅覚古典的条件付け課題の訓練を行った。訓練を行うことで遅延区間において、報酬がもらえる匂い A が提示後には、報酬を予測したリックが見られるようになった。一方、報酬がもらえない匂い B の提示後には、報酬を予測したリックはあまり見られなかった。こうしたことから、マウスは匂いから報酬を予測し、古典的条件付けとして学習が完了していることが分かった。こうした訓練後、マウスが行動課題遂行中に、mPFC から vTT へと投射する mPFC 神経細胞の軸索を特定のタイミングで光抑制し、その際の vTT の活動を記録することで、mPFC から vTT に行動状態の情報が送られるのかどうかを明らかにした。マウスは、嗅覚古典的条件付け課題を 1 日に 300～400 試行繰り返し行うことが出来、その中のランダムな試行において、試行開始から終了まで光抑制を行った。光抑制を行わない条件を統制条件とし、これらの比較を行った。結果として、これまでの自身の研究で見られたように、嗅覚古典的条件付け課題においても vTT の神経活動は、光抑制を行わない条件では文脈に依存した様々な行動に対して応答する神経細胞が見られた（図 3a 青線：光抑制がない条件下での vTT 神経細胞応答）。こうした応答特性を持つ細胞に対して、mPFC から vTT へと投射する mPFC 神経細胞の軸索を光抑制することによって、光抑制を行わない条件に比べて vTT 神経細胞の活動が減ることが明らかとなった（図 3a 緑線：光抑制条件下での vTT 神経細胞応答）。複数の個体に共通して、記録された神経細胞全体で見ても、光抑制を行った条件では、光抑制を行わない条件と比べると、行動状態に応答した vTT 神経細胞の活動が有意に下がることが示された（図 3b）。これらの結果から、mPFC から vTT に行動状態の情報が送られていることが明らかとなった。

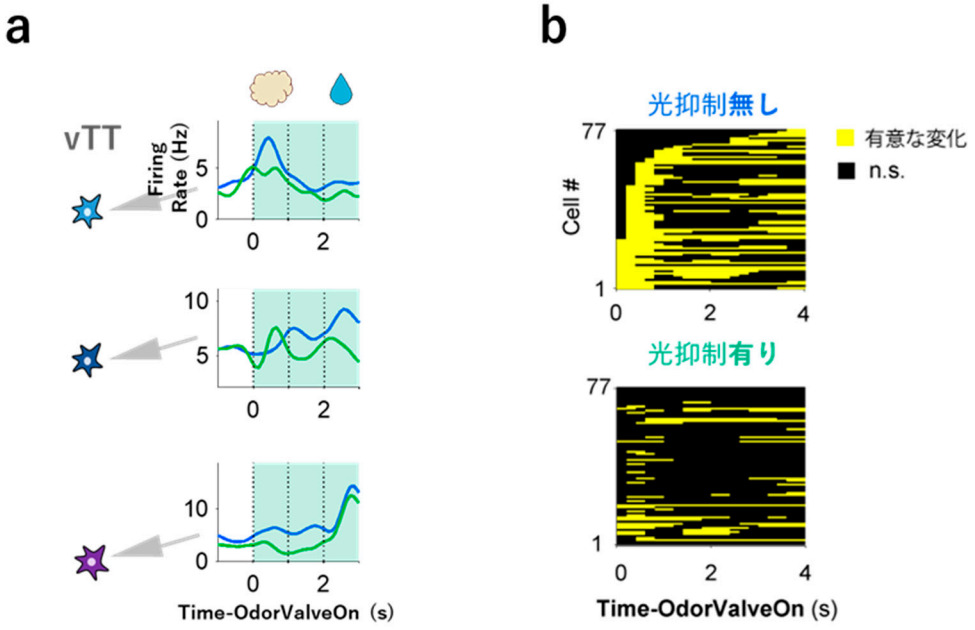


図 3.　mPFC→vTT の神経軸索抑制時における vTT 神経細胞応答

a）匂い刺激提示を 0 s とした時の vTT 神経細胞の一例を表した Peristimulus time histogram（PSTH）：0～1 秒間で匂い刺激が提示され、1～2 秒間は遅延区間とし、2 秒に報酬が提示された。青線の PSTH は、光抑制がない条件下であり、緑線の PSTH が光抑制時条件下である。

b）光抑制の有無による vTT 神経細胞集団の応答特性：縦軸が一つひとつの細胞を表し、有意な変化のあったものを黄色で表している。

考　察

これまでの研究より、vTT と mPFC 入出力関係（図 1a）と vTT の文脈依存の行動状態に対する応答特性（図 1b）から mPFC→vTT への投射経路が文脈に基づいた行動情報を vTT に供給していることを証明するために、mPFC の神経細胞に Arch3.0 を発現させ、vTT に光ファイバーを挿入することで mPFC の神経軸索の抑制実験を行った。その結果として、mPFC→vTT の神経軸索抑制時に vTT 神経細胞応答は、全体的に下がることが分かった。この結果は、vTT の行動状態に応答していた活動は、主に mPFC からの直接入力によってもたらされていることが示される。今後の研究として、mPFC→vTT の神経軸索抑制を行うことによって、マウスの嗅覚古典的条件付け課題において、行動にどのような影響が出るのかについて詳細に調べると共に、光抑制するタイミングを試行開始から終了ではなく、任意に匂い提示区間や報酬区間などの短い時間で区切っていき、mPFC から vTT への入力される重要なタイミングを調べる予定である。

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、奈良県立医科大学医学部生理学第一の眞部寛之准教授と名古屋大学大学院医学系研究科機能形態学講座分子細胞学分野の谷隅勇太研究員である。

文　献

1） Miller BT, D'Esposito M. Searching for "the top" in top-down control. Neuron. 2005 Nov 23;48(4):535-8. doi: 10.1016/j.neuron.2005.11.002. PMID: 16301170.

2） Igarashi KM, Ieki N, An M, Yamaguchi Y, Nagayama S, Kobayakawa K, Kobayakawa R, Tanifuji M, Sakano H, Chen WR, Mori K. Parallel mitral and tufted cell pathways route distinct odor information to different targets in the olfactory cortex. J Neurosci. 2012 Jun 6;32(23):7970-85. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0154-12.2012. PMID: 22674272; PMCID: PMC3636718.

3） Mori K, Sakano H. How is the olfactory map formed and interpreted in the mammalian brain? Annu Rev Neurosci. 2011;34:467-99. doi: 10.1146/annurev-neuro-112210-112917. PMID: 21469960.

4） Shiotani K, Tanisumi Y, Murata K, Hirokawa J, Sakurai Y, Manabe H. Tuning of olfactory cortex ventral tenia tecta neurons to distinct task elements of goal-directed behavior. Elife. 2020 Aug 4;9:e57268. doi: 10.7554/eLife.57268. PMID: 32749216; PMCID: PMC7423337.

5） Hyman JM, Ma L, Balaguer-Ballester E, Durstewitz D, Seamans JK. Contextual encoding by ensembles of medial prefrontal cortex neurons. Proc Natl Acad Sci U S A. 2012 Mar 27;109(13):5086-91. doi: 10.1073/pnas.1114415109. Epub 2012 Mar 14. PMID: 22421138; PMCID: PMC3323965.