

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 3 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25830003

研究課題名(和文) 嗅皮質鋭波内で起こるニューロン発火活動の再活性化とその機能

研究課題名(英文) Functional analysis of the reactivation of neuronal activity in the olfactory cortex sharp waves

研究代表者

眞部 寛之 (Manabe, Hiroyuki)

東京大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：80511386

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：(1)徐波睡眠中の前梨状皮質と前頭眼窩皮質において、互いのup stateとdown stateの出現タイミングを同調させることで、また、梨状皮質で起こる嗅皮質鋭波出現のタイミングを前頭眼窩皮質のup stateとdown stateの切り替わりのタイミングに合わせることで、特定の時間枠で情報のやり取りをしていることが分かった。(2)匂いを手掛かりとした摂食行動中に応答を変化させる嗅結節のニューロン群を発見した。同様のニューロン群はTenia Tectaにおいても見つかри、匂い入力をモチベーション/情動行動に変換する回路を見出した。

研究成果の概要(英文)：(1)We simultaneously recorded local field potential and spike activities in the anterior piriform cortex (APC) and orbitofrontal cortex (OFC) during slow-wave sleep. We found a clear temporal coordination of the up-down states between APC and OFC. The sharp waves in the APC tended to occur just after the transition from the down state to up state and just before the transition from the up state and down state in the OFC. These results suggest that the up-down state in the OFC provides a common temporal framework for the interactions between the APC and OFC during slow-wave sleep. (2)We found the eating neurons that changed in the firing frequency during the odor induced food-seeking and feeding behavior in the olfactory tubercle and the Tenia Tecta. These results suggest that the olfactory tubercle and Tenia Tecta play crucial roles in the odor-induced motivated behaviors.

研究分野：神経生理学

キーワード：嗅覚 電気生理 睡眠 梨状皮質 前頭眼窩皮質 嗅結節 Tenia Tecta 摂食モチベーション

1. 研究開始当初の背景

動物にとって嗅覚は、個体の維持、種の保存等に必須の感覚である。食物の探索や摂食可否の判断、交尾相手の選別や縄張りの確保などは嗅覚が必須であることがよく知られている。嗅覚受容体の発見 (Buck and Axel 1991) 以後、嗅覚系の神経メカニズムの理解は急速に進み、嗅覚受容体の存在する嗅上皮や嗅球での匂い分子コーディングの基本ロジックは解明されてきたが、嗅皮質やより上位の嗅覚中枢の高次嗅覚情報処理機構に関しては依然不明である。

研究代表者らはこれまで、自由行動下ラットの嗅皮質から局所脳波と多数のユニット活動を同時に記録できる系を開発し、嗅皮質における嗅覚情報処理機構の基本ロジックを明らかにすることを目的として研究を進めてきた。そして、徐波睡眠時、嗅皮質のもっとも広い領域を占める梨状皮質において、特徴的な局所脳波「鋭波」が起こること、鋭波に伴って多くの梨状皮質ニューロンの同期的な発火活動が繰り返し起こることを見出した (Manabe et al. 2011)。

鋭波は、徐波睡眠時や覚醒休息時に海馬で起こることが最初に見いだされ、多くの研究がなされている。海馬鋭波は、直前に経験した海馬ニューロンの発火活動パターンを再活性化 (リプレイ) させることが知られている (Lee and Wilson 2002)。また、海馬鋭波の活動は大脳皮質にまで波及することが知られており、リプレイによって海馬の該当シナプスを強化するとともに、大脳皮質に情報を戻し、大脳皮質における記憶の固定化に寄与していると考えられている (記憶の固定化の二段階仮説、Buzsaki 1989)。

我々が発見した徐波睡眠時に起こる嗅皮質での鋭波 (嗅皮質鋭波) は、梨状皮質内に豊富に存在する反回側枝の同期的な活動によって生成され、海馬鋭波とは独立して発生する。また、各々の嗅皮質鋭波には特定の嗅皮質ニューロン群が参加する。これらの特徴は海馬鋭波のニューロン発火活動再活性化の特徴とよく似ており、嗅皮質鋭波に伴って覚醒時の嗅皮質ニューロン応答パターンを再活性化していると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、嗅皮質鋭波の機能を明らかにすることを大きな目的とし、具体的には以下のことを明らかにすることを目的とした。

(1) 徐波睡眠中の嗅皮質鋭波を介した他の脳領域 (前頭眼窩皮質) との相互作用

嗅皮質鋭波が海馬と類似の機能を有しているならば、嗅皮質鋭波は直前の覚醒時に経験した神経活動パターンの再活性化の場であると共に、他の脳領域との情報をやり取り

する担体の役割をしていると考えられる。

前頭眼窩皮質は前梨状皮質の dorsal 部に存在し、前梨状皮質からの直接入力を受けると共に、前梨状皮質に直接投射し、top-down 入力を与える。また、前頭眼窩皮質は嗅覚や味覚の情報が統合される場であること、動物の行動選択に重要な役割をしている領域であることが知られている。本研究の第一の目的は、徐波睡眠中、前梨状皮質と前頭眼窩皮質の間に嗅皮質鋭波を介した相互作用があるかどうかを確かめることである。

(2) 嗅結節鋭波でコードされる情報の探索

嗅皮質鋭波でどのような情報が再活性化されるのかを検証するのが本研究の第二の目的である。嗅皮質は、匂い入力に対して応答することは知られているが、匂いのどのような側面をどの嗅皮質垂領域がコードしているかはほとんどわかっていない。嗅皮質鋭波が経験に基づく嗅覚記憶の固定化に必要であるならば、覚醒時のどのような匂い情報が再活性化され長期記憶として固定化されるのかを知る必要がある。本研究では、嗅皮質の中でも匂い入力を情動行動に変換するのに重要であると考えられている嗅結節に着目し、まず、匂い入力を情動行動に変換する回路機構を明らかにすることを目的とする。本研究では、匂い入力によって惹起される摂食行動/摂食拒否行動に着目し、本情動行動をコードする嗅結節垂領域の探索と、神経回路作動機構を明らかにする。その後、該当ニューロンが徐波睡眠時の嗅皮質鋭波内で再活性化するかどうかを検証する。

3. 研究の方法

(1) 嗅皮質鋭波を介した嗅皮質-前梨状皮質相互作用の解析

行動実験

フィールドの両端に食べ物を置き、ラットが交互に食べ物を摂取する行動を繰り返し行うように訓練した。さらに、摂食行動の後に睡眠を 1~2 時間取るように訓練した。

嗅皮質と前梨状皮質の同時記録

直径 12.5 μm のタングステン電極を 4 本より合わせて作成したテトロード電極を用い、この電極を 16 本独立に動かすことのできる自作マイクロドライブを麻酔下にてラット頭蓋骨に固定する手術を行った。電極は前梨状皮質と前頭眼窩皮質に 8 本ずつ挿入した。呼吸リズムを記録するために、鼻腔内にサーモカップル (温度計) を留置した。1 週間以上回復期間を置いた後、の行動を行わせる間中、ニューロンの発火活動を記録した。ニューロン発火活動の記録は Neuralynx 社製の多チャンネル記録装置を用いて行った。実験終了後、マイクロドライブを動かすことによって翌日以降異なるニューロン群から記録

を取った。

すべての記録終了後、深麻酔下で、電極に電流を流すことによってマーキングし、ラットを還流固定後、脳切片を作り電極挿入位置を確認した。

(2) 嗅結節における情報処理の解明

匂いを手掛かりとした摂食/摂食拒否行動実験の確立

マウスに匂いAと砂糖を、匂いBと嫌悪(匂いBのする砂糖を食べさせた後、塩化リチウムを腹腔内投与し体調不良を起こさせることによって、匂いBに対する嫌悪を学習させた。)を連合学習させた。その後、匂いAまたはBを付けたディッシュに砂糖を入れたものをランダムにフィールド上に提示した。砂糖は床敷きを被せて見えなくした。ディッシュが提示されると、マウスはディッシュに寄って行き、匂いAならば床敷きを掘って砂糖を摂食し、匂いBならば床敷きを掘らずにその場から立ち去る行動を示した。

嗅結節垂領域からのニューロン発火活動記録

の行動が確立後、麻酔下にて嗅結節垂領域にテトロード電極を挿入する手術を行った。テトロードは3本1組でマイクロドライブに接続し、マイクロドライブをマウス頭蓋骨に固定した。呼吸リズムを測定するために鼻腔内にサーモカップルを留置した。

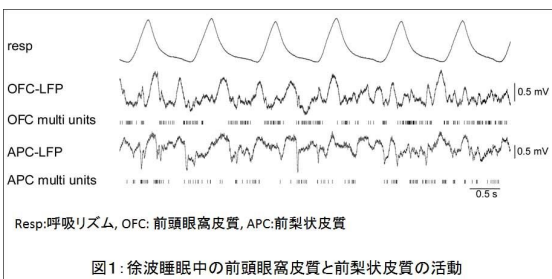
1週間以上回復期間を置いた後、の行動を行わせる間中、ニューロンの発火活動を記録した。ニューロン発火活動の記録はNeuralynx社製の多チャンネル記録装置を用いて行った。実験終了後、マイクロドライブを動かすことによって翌日以降異なるニューロン群から記録を取った。

すべての記録終了後、深麻酔下で、電極に電流を流すことによってマーキングし、マウスを還流固定後、脳切片を作り電極挿入位置を確認した。

4. 研究成果

(1) 徐波睡眠中の前梨状皮質と前頭眼窩皮質間での相互作用

前頭眼窩皮質と前梨状皮質での up state と down state の出現タイミングの同期



徐波睡眠中、前頭眼窩皮質の局所電場電位

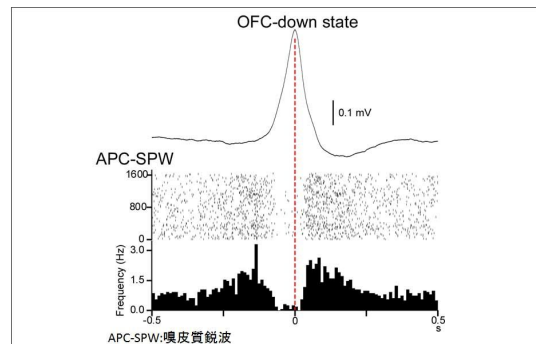
(LFP)を記録すると、振幅が大きくゆっくりとした波である slow-wave が観察された(図1)。この slow-wave は、徐波睡眠時に前頭野で観察される slow-wave と類似しており、内側前頭前皮質の LFP と前頭眼窩皮質の LFP を同時計測するとほぼ一致しており、徐波睡眠中、前頭皮質全体にわたって共通する slow-wave が出現することが分かった。また、徐波睡眠時の前頭眼窩皮質におけるスパイク発火活動は、深層において、下向きの波の時には良く発火するが、上向きの波の時には発火が押さえられた。これは、徐波睡眠時に前頭眼窩皮質で up state と down state が交互にあらわれていることを示しており、他の前頭野でも報告されていることから、前頭野で共通してみられる性質であることが分かった。

一方、徐波睡眠中の前梨状皮質の LFP には嗅皮質鋭波が見られるが、より遅い周波数の slow-wave も見られることが分かった。前梨以上皮質のスパイク活動もまた、深層の slow-wave の下向きの波の時には良く発火するが、上向きでは発火が押さえられる傾向があった。よって、前梨状皮質もまた、徐波睡眠時には、up state と down state を交互に繰り返すモードになっていることが分かった。

前頭眼窩皮質と前梨状皮質の slow-wave を比較してみると、up state と down state の出現タイミングがほぼ一致していることが分かった。

嗅皮質鋭波出現タイミングと前頭眼窩皮質の slow-wave との関係

嗅皮質鋭波が前頭眼窩皮質の slow-wave のどのタイミングで出現する傾向があるかを調べたところ、down state から up state に切り替わるところ、また、up state から down state に切り替わるところで頻出することが分かった(図2)。



嗅皮質鋭波を介した前梨状皮質-前頭眼窩皮質相互作用

前頭眼窩皮質の一部のニューロンは、嗅皮質鋭波の出現に伴って応答することが分かった(図3)。

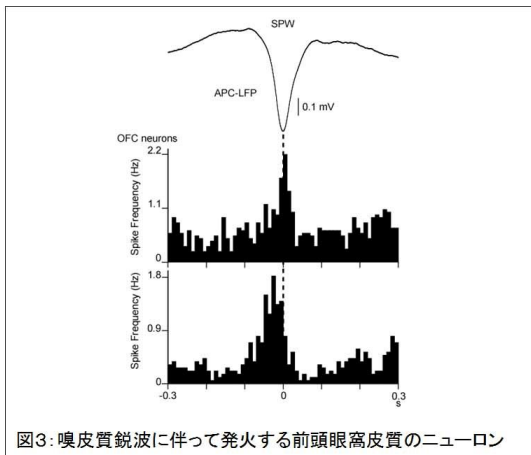


図3: 嗅皮質鋭波に伴って発火する前頭眼窩皮質のニューロン

以上の結果より、徐波睡眠中、前頭眼窩皮質と前梨状皮質は、up state と down state (up-down state) のタイミングを合わせること、up-down state の出現と嗅皮質鋭波出現のタイミングを合わせることを通じて、特定のタイミング内で、積極的に両皮質間で情報のやり取りをしていると考えられる。今後は、やり取りされる情報がどのような情報なのかを明らかにしていく。

(2) 嗅結節および Tenia Tecta で摂食行動時に発火頻度を変化させるニューロン(eating neurons)の発見

嗅結節における eating neurons の発見

マウスに匂いを手掛かりとした摂食/摂食拒否行動を取らせ、その時の特定の嗅結節亜領域の神経活動を記録すると、摂食行動時に応答を変化させる2種類のニューロン群が見つかった(図4)。1つはマウスがディッシュにタッチするあたりで発火頻度が増加し始め、床敷きを掘り砂糖を摂食する間中増加が維持され、ディッシュを取り除いた瞬間に発火頻度が元に戻る群であった(eating on neuron と名付けた)。もう1群は eating on neuron と同様の時間変化をたどるが、発火頻

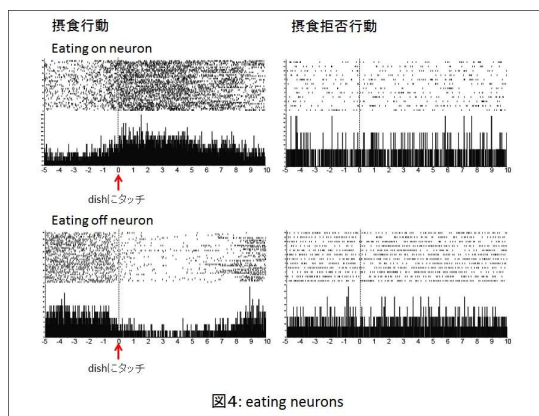


図4: eating neurons

度が減少する群であった(eating off neuron と名付けた。eating on neuron と eating off neuron を合わせて eating neurons と名付けた)。eating neurons は条件付けされた匂いの種類によらず、マウスの行動に対応して応

答を変化させた。また、ディッシュはマウスが摂食中、強制的に除去したため、ディッシュ除去後も口腔内には砂糖が残っていたが、応答の変化は終了した。さらに、マウスが普段食べている粉餌をディッシュに置いて同様の摂食行動をさせても同様の応答変化を示した。

したがって、eating neurons は単に感覚情報に対して応答を変化させているのではなく、一連の摂食行動に対応して応答変化をしており、摂食モチベーションをコードしている可能性がある。

Tenia Tecta における eating neurons

嗅結節のすぐ物側に Tenia Tecta と呼ばれる嗅皮質の1領域がある。上記摂食/摂食拒否行動中のマウス Tenia Tecta のニューロン発火活動を記録すると、嗅結節と同様の応答変化を示す eating neurons が見つかった。

本研究によって、嗅覚入力を摂食モチベーション/情動行動に変換する神経回路の一部を見出した可能性がある。今後は詳細な神経回路機構を探索する。また、これらのニューロンが、経験後の徐波睡眠中に嗅皮質鋭波に伴って再活性化するかどうか、またその機構について調べることで、嗅皮質における記憶固定化のメカニズムを明らかにしていく。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表](計 1件)

Naomi Onisawa, Hiroyuki Manabe, Kensaku Mori, Coordinated activity of anterior piriform cortex and orbitofrontal cortex during slow-wave sleep, Neuro 2013, 2013年6月22日, 国立京都国際会館(京都府京都市)

6. 研究組織

研究代表者

眞部 寛之 (MANABE, Hiroyuki)

東京大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号: 80511386