

令和 3 年 5 月 14 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02532

研究課題名（和文）高次嗅覚中枢における匂い嗜好の情報処理と回路メカニズム

研究課題名（英文）Computations and circuit mechanisms underlying odor valence assessment in the higher-order olfactory center

研究代表者

風間 北斗（Kazama, Hokto）

国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・チームリーダー

研究者番号：90546574

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、少数の細胞で構成され、ほ乳類と類似した構造や機能を備えるショウジョウバエ成虫の嗅覚回路に着目し、匂い嗜好の決定に重要とされる二次嗅覚中枢である側角における情報処理様式を解析した。二次嗅覚中枢のほぼ全ての細胞群から活動を記録・解析する技術を開発し、様々な匂いに対する応答を解析した結果、仮説の通り快いあるいは不快な匂いカテゴリ特異的に応答する細胞が存在することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、二次嗅覚中枢において匂い嗜好に関する情報がどのように符号化されているかを初めて系統的に明らかにするものと位置づけられる。また、シナプスで直接つながった二層の神経細胞群から、細胞の分解能を保ちつつ網羅的に活動を取得できる系は希有である。ゆえに本研究で開発した実験・データ解析技術は、多層の神経回路でどのような計算がどのようなメカニズムで行われるかという脳科学の根本的な問いに迫ることに資すると期待される。

研究成果の概要（英文）：We investigated the computation that takes place in the second-order olfactory processing center of the *Drosophila*, which is comprised of a relatively small number of cells but whose structure and functions are similar to that of mammals. By developing a technology to record from nearly all the cells in the second-order olfactory processing center, we discovered neurons that encode information about odor valence as hypothesized.

研究分野：神経科学

キーワード：嗅覚情報処理 カルシウムイメージング ショウジョウバエ

1. 研究開始当初の背景

我々は、絶えず外界から獲得する感覚情報に基づいて思考し、判断を下し、行動する。例えば、好物の匂いを感じれば歩みを進め、危険物や腐敗物の匂いを感じれば回避する。しかしながら、生得的な匂い知覚を生み出す神経のメカニズムは、特に回路レベルではまだ良く分かっていなかった。

匂い知覚は、嗅覚受容細胞が匂い物質を検出することから始まる。興奮した嗅覚受容細胞が情報を伝える先の一次嗅覚中枢は、糸球体という構造に区画化されている。各糸球体は、特定の匂い受容体を発現した嗅覚受容細胞から投射を受けるため、特定の匂い情報を伝達するチャンネルとして見なすことができる。糸球体からの出力は、嗅覚受容細胞とシナプス結合する投射細胞によって高次脳領域へと伝えられる。これまでの研究によって、匂い情報が糸球体群の活動にどのように符号化されるかは理解が進んできた。しかし、その符号化された情報が、高次脳領域でどのように解釈されるかは未解決の問題である。それは、生体内において、細胞や糸球体の解像度で匂いの神経表現を俯瞰することが非常に困難なためだと考えられる。

そこで我々は、匂いに対する神経活動を包括的に記録できるショウジョウバエを用いることでこの問題に取り組んできた。カルシウムイメージングによって、ほぼ全ての糸球体に属する投射細胞から活動を取ることに成功した。一方、ハエの行動に応じて匂い刺激を自由に制御できる仮想空間を作成し、飛行中のハエが匂いに対してどの程度逃げたり近寄ったりするのかを詳細に解析した。これらのアプローチを組み合わせることで、投射細胞群の活動からハエの匂い嗜好を定量的に解釈するモデルを作成することに成功した (Badel et al., *Neuron*, 2016)。実際の脳では、投射細胞が到達する二つの脳領域のうち、側角と呼ばれる高次嗅覚中枢が生得的な匂い嗜好の情報を解釈することが示唆されている。しかし、側角においてどのような情報処理が行われているかは未知に等しかった。

2. 研究の目的

本研究では、少数の細胞で構成され、ほ乳類と類似した構造や機能を備えるショウジョウバエ成虫の嗅覚回路に着目し、匂い嗜好の決定に重要とされる二次嗅覚中枢である側角における情報処理様式を解明することを目指す。具体的には、一次嗅覚中枢及び側角のほぼ全ての細胞群から匂い応答を記録し比較することで、側角でどのような情報変換が起こるかを明らかにする。特に、これまでの研究で我々が作成したモデルが示す、快いあるいは不快な匂いカテゴリ特異的に応答する側角細胞が存在するという仮説を検証する。さらに、側角細胞の匂い応答を生成するシナプスと回路のメカニズムを、光遺伝学と電気生理学を用いて解明する。

3. 研究の方法

我々はこれまでに、様々な匂い物質に対する誘引や忌避といった生得的行動を詳細に解析してきた。まず、これらの匂いに対する神経活動を、一次嗅覚中枢の投射細胞と二次嗅覚中枢の側角細胞から包括的に記録した。記録には、一度に多数の細胞を調べるのに適した二光子励起顕微鏡によるカルシウムイメージングを用いた。投射細胞に関してはこれまでに確立した手法を用いた。

一方、側角細胞に関しては、全ての神経細胞にカルシウム指示薬 jRGECO1a 又は GCaMP、そして光活性化型 GFP である PA-GFP を共発現させ、匂い応答を取得した後に側角でのみ PA-GFP を活性化させることで側角に投射する細胞体群を同定した。

匂い応答のデータ取得後に、各糸球体に属する投射細胞、及び側角細胞の匂い応答の選択性を調べ、各々の細胞がどのような匂い情報を抽出しているかを評価した。特に、快いあるいは不快な匂いのカテゴリ特異的に応答する側角細胞が存在するという仮説を検証した。もし仮説通りの結果が得られた場合、側角は匂いが持つ様々な情報の中でも、快・不快に関するものを抽出するような演算を行っていることを示唆する証拠となる。

更に、側角細胞の匂い応答を生成するメカニズムを、シナプスと回路のレベルで理解することを目指した。まず、投射細胞と側角細胞同士が結合して形成する回路の、機能的配線図を作成することを試みた。光を当てると細胞の興奮・発火を誘起する光感受性タンパク質チャンネルロドプシンを投射細胞に発現させ、投射細胞が属する糸球体を二光子励起を用いて逐次刺激した。それに対する側角細胞のシナプス応答を、ホールセルパッチクランプ法と呼ばれる電気生理学的手法で記録し、側角細胞がどの糸球体群から入力を受けているかを系統的に調べた。また、電子顕微鏡画像に基づいて決定されたショウジョウバエ成虫脳のコネクトームデータが 2020 年度に公開されたため、それを用いて側角細胞とシナプス前細胞である投射細胞の結合性を解析する手法も採用した。

4. 研究成果

まず、側角の大半の細胞から活動を記録するために最も適合したカルシウム指示薬の選定を行った。その結果、励起と蛍光がより長波長にシフトした赤色の蛍光タンパク質をベースにした jRGECO1a よりも、緑色の蛍光を発する GCaMP6s の方が適していることが分かった。GCaMP6s の蛍光波長は PA-GFP のものとオーバーラップするが、薬理学と組み合わせたところ、光活性化後に見られる蛍光強度の上昇から側角に投射する細胞を同定できることが確認できた。異なる個体で、同様の領域に位置する細胞体群が標識されたため、再現性良く側角細胞を同定できることが示唆された。本手法は、側角のみならず、どの脳領域にも適応可能なものである。

続いて二光子励起顕微鏡による画像取得条件を最適化することで、様々な匂いに対する応答を側角細胞から取得することを試みた。応答を定量するために、カルシウムイメージング法で取得した細胞活動の時系列データを基に、数百の細胞体を自動的に検出するパイプラインを構築した。これら一連の手法を用いて側角細胞の匂い応答を包括的に取得したところ、当初の仮説通り、匂いの快・不快の情報を符号化する細胞が確認された。その一方で、快・不快以外の情報を符号化する細胞も多数検出された。解剖学的には、側角には、嗅覚のみならず多数の感覚の回路から入力があるため、異なる感覚の情報や多感覚を統合した情報が表現されていることが示唆され、今後の研究の方向性が与えられた。

側角細胞の匂い応答を生成するメカニズムの理解に向けては、光遺伝学と電気生理学を用いた実験を行った。複数のシナプス入力があるどのように統合されるか、解析を進めている。また、研究開始当初は予期していなかったが、2020 年に電子顕微鏡画像に基づいたショウジョウバエ成虫脳のコネクトームデータが公開された。そこで、この解剖学的知見を用いて、側角細胞とシナプス前細胞である投射細胞の結合性を解析し、回路メカニズムの一端を明らかにすることができた。

近年齧歯類では、二次嗅覚中枢の一つである扁桃皮質核が匂いの生得的行動に重要であるという報告があったが (Root et al., Nature 2014)、その脳領域において匂いに対する神経活動はようやく取得されはじめたところである (Iurilli & Datta, Neuron 2017)。ショウジョウバエにおいても状況は同様であり、側角の一握りの神経細胞からしか活動は記録されていない (Kohl et al., Cell 2013; Fisek & Wilson, Nat Neurosci 2014; Frechter et al., eLife 2019; Varela et al., PLoS Biol, 2019; Lerner et al., Sci Rep 2020)。従って本研究は、二次嗅覚中枢において匂い嗜好に関する情報がどのように符号化されているかを初めて系統的に明らかにするものと位置づけられる。また、シナプスで直接つながった二層の神経細胞群から、細胞の分解能を保ちつつ網羅的に活動を取得できる系は希有である。ゆえに本研究で開発した実験・データ解析技術は、多層の神経回路でどのような計算がどのようなメカニズムで行われるかという脳科学の根本的な問いに迫ることに資すると期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Endo K, Tsuchimoto Y, Kazama H	4. 巻 108
2. 論文標題 Synthesis of conserved odor object representations in a random, divergent-convergent network.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuron	6. 最初と最後の頁 367-381
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neuron.2020.07.029	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shiozaki HM, Ohta K, Kazama H	4. 巻 106
2. 論文標題 A multi-regional network encoding heading and steering maneuvers in Drosophila	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuron	6. 最初と最後の頁 126-141
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neuron.2020.01.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ando T, Sekine S, Inagaki S, Misaki K, Badel L, Moriya H, Sami MM, Chihara T, Kazama H, Yonemura S, Hayashi S	4. 巻 29
2. 論文標題 Nanopore formation in the cuticle of the insect olfactory sensillum	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Current Biology	6. 最初と最後の頁 1512-1520
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.cub.2019.03.043	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Mercier D, Tsuchimoto Y, Ohta K, Kazama H	4. 巻 28
2. 論文標題 Olfactory landmark-based communication in interacting Drosophila	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Current Biology	6. 最初と最後の頁 2624-2631
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.cub.2018.06.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujisawa S, Kazama H	4. 巻 140
2. 論文標題 Circuits and neural dynamics underlying behavior	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 1-2
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2019.01.002	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件 (うち招待講演 11件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Hokto Kazama
2. 発表標題 Dynamics of olfactory representations in the Drosophila memory center
3. 学会等名 Neuroscience2020 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hokto Kazama
2. 発表標題 脳が世界を感じるしくみ 匂い空間における探索
3. 学会等名 科学技術広報研究会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hokto Kazama
2. 発表標題 Decoding of olfactory computations in the brain.
3. 学会等名 Kyoto University (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hokto Kazama
2. 発表標題 Neural basis of odor-taste multisensory integration in Drosophila
3. 学会等名 42nd Annual meeting of the molecular biology society of Japan (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hokto Kazama
2. 発表標題 動物のナビゲーションを支える神経回路のしくみを解く 顕微鏡と仮想空間の融合がもたらすソリューション
3. 学会等名 42nd Annual meeting of the molecular biology society of Japan (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hokto Kazama
2. 発表標題 Odor-taste multisensory integration in Drosophila
3. 学会等名 Naito Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hokto Kazama
2. 発表標題 記憶中枢における匂いオブジェクトの生成
3. 学会等名 Neuroscience2019 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hokto Kazama
2. 発表標題 ショウジョウバエの脳高次機能の限界はどこにあるのか？ 顕微鏡周りに広がる無限の可能性
3. 学会等名 52nd Annual meeting of the Japanese society of developmental biologists (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hokto Kazama
2. 発表標題 Plasticity and stability of olfactory representations in the Drosophila memory center
3. 学会等名 Neuroscience2018 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hokto Kazama
2. 発表標題 Synthesis of unitary odor object representations in an association area
3. 学会等名 International workshop on olfaction (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroshi Shiozaki, Ohta K, Kazama H
2. 発表標題 Neural dynamics encoding flight steering maneuvers in the fan-shaped body of Drosophila
3. 学会等名 Structure and Function of the Insect Central Complex (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroshi Shiozaki, Kazama H
2. 発表標題 Neural dynamics during flight orientation in the central brain of Drosophila
3. 学会等名 Neuroscience2018 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hongping Wei, Kazama H
2. 発表標題 Odor-taste multisensory integration in Drosophila
3. 学会等名 Neuroscience2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mercier D, Tsuchimoto Y, Ohta K, Kazama H
2. 発表標題 Bioluminescence neural-monitoring reveals olfactory landmark-based communication in interacting Drosophila
3. 学会等名 International workshop on olfaction (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Damien Mercier、高木(槌本)佳子、太田和美、風間北斗	4. 発行年 2020年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 222
3. 書名 実験医学別冊 発光イメージング実験ガイド (永井健治、小澤岳昌編集)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------