

令和 5 年 5 月 17 日現在

機関番号：34310

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06963

研究課題名(和文) 嗅覚本能回路における嗅皮質 視床下部外側野回路の機能的役割の解明

研究課題名(英文) Search for functional role of the olfactory cortex-lateral hypothalamus circuit in the olfactory instinct behavior

研究代表者

眞部 寛之 (Manabe, Hiroyuki)

同志社大学・研究開発推進機構・准教授

研究者番号：80511386

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、電気生理学的手法を主に用いて嗅皮質の個々の亜領域の機能探索を行うことで、匂い情報を本能行動などの行動出力に変換する機構を明らかにするものである。本研究によって、これまで未解明であった嗅皮質亜領域の機能を次々と明らかにした。具体的には、前部扁桃皮質核は匂いと報酬期待情報を連合する機能があること、外側嗅索核は匂いと報酬を連合する機能があること、腹側テニアテクタは内側前頭前野から学習行動に関わる全ての行動状態の情報を受け取るとを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで未解明であった嗅皮質亜領域の機能をいくつも明らかにしたことで、匂い情報を行動出力に変換する神経回路機構の全容解明に向けた足掛かりとなる成果を得られた。他の感覚系に比べてシンプルな経路である嗅覚系でこのような研究が進むことで、感覚情報を行動出力に変換する共通のロジックを見つけられる可能性がある。また、新型コロナウイルス感染症による嗅覚障害の原因究明や、治療法の開発、また、匂いを使って特定の本能行動、情動などを誘発させる技術の開発等にもつながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The present research project aimed to elucidate the functions of individual subregions of the olfactory cortex, mainly using electrophysiological techniques, in order to clarify the mechanisms that convert odor information into behavioral outputs such as instinctive behavior. We have obtained many findings of the unexplored functions of olfactory cortical subregions as the following. The anterior amygdaloid nucleus neurons associated odor and reward expectancy information, many of the nucleus of lateral olfactory tract neurons associated odor and reward information, and the individual ventral tenia tecta neurons were selectively activated during a specific behavioral state information input from the medial prefrontal cortex.

研究分野：神経科学、神経生理学

キーワード：嗅皮質 嗅覚 電気生理 光遺伝学

1. 研究開始当初の背景

近年、天敵の匂いによって起こる忌避反応や仲間の匂いに対する誘引反応といった嗅覚の本能行動には、それぞれ専用の神経回路が存在することが分かってきた。しかしこれらの研究は、嗅覚一次中枢の嗅球から二次中枢の嗅皮質への回路に限定されている。匂いで特定の本能行動を引き起こす神経回路はどのようなものであるかという、嗅覚情報処理研究上の重要な問いは、いまだ一部分のみ解明されたにすぎず、匂い入力から本能行動にいたる回路の全容は依然不明である。特に、嗅皮質からの出力が、本能行動の制御中枢へいたる経路は、匂い情報を行動出力に繋げる最重要部分であるにもかかわらず全くわかっていない。

これまで申請者らは、嗅覚によって起こる摂食行動を担う本能回路を見出すことを目指し、摂食行動を制御する視床下部外側野に着目し、嗅皮質から視床下部外側野への神経投射を探索してきた。そして最近、視床下部外側野に直接軸索投射する抑制性ニューロン群をマウス嗅皮質内の亜領域で発見した。この亜領域はまだ解剖学的に区分されていない空白領域であったため、申請者らはこの亜領域を ventral olfactory nucleus (VON、腹嗅核) と名付けた。視床下部外側野にはオレキシン産生ニューロンやメラニン凝集ホルモン (MCH) 産生ニューロンなど摂食行動を制御するニューロンが存在しており、VON ニューロンはこれらのニューロン近傍に軸索を伸ばしている。したがって VON ニューロンは、これら摂食関連ニューロンを制御することで摂食行動を制御すると推察される。VON のように、鼻から入力した匂い情報が最短 3 シナプスしか介さず視床下部外側野に入力するようなシンプルな経路の機能解明研究は、感覚情報を行動出力に変換する回路機構の解明に大きく貢献すると考えられる。

2. 研究の目的

本研究は、VON のような視床下部に直接投射する嗅皮質亜領域が、匂い情報を本能行動のような行動出力に変換する際の機能を明らかにすることを目的とする。そのために、行動課題遂行中のマウス嗅皮質亜領域から神経活動を記録しニューロンの特性を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 行動課題

匂いを手掛かりとした Go/No-go 学習課題

匂いで惹起される摂食行動を詳細に解析するため、各行動状態を細分化できる匂いを手掛かりとした Go/No-go 学習行動課題を用いた。匂いの出る匂いポートと報酬(水)が得られる水ポートの2つが壁に設置されているオペラントボックスを用いた。マウスが匂いポートに鼻を突っ込み、匂い A が出てきた場合は水ポートに行けば(Go)水がもらえ、匂い B が出てきた場合は水ポートに行かず一定時間待つ(No-Go)という行動を学習させた。タスクはコンピューター制御し、試行毎にランダムな匂いが出現するようにした。各ポートへの出入りはポートに付けた赤外線センサーを用いてモニターした。

匂いと報酬/罰の条件付け課題

頭部固定下のマウスの鼻先に設置したチューブを通じて 4 種類の匂いをランダムに 1 秒提示する。1 秒待たせたのち、それぞれの匂いに応じて、小さな報酬(水)、大きな報酬、報酬確率 1/2、罰(目に弱い風を吹き付ける、エアパフ)を提示した。学習の達成度は、報酬と結びついた匂いを嗅いだ後、報酬を得られるまでの待ち時間の間に水のチューブをなめる報酬期待リック行動によって定義した。

(2) 電気生理学的解析

直径 12.5 μm のタングステンまたはニクロムワイヤー 4 本を 1 つにしたテトロード電極を 4 - 8 本搭載したマイクロドライブ(テトロード電極を動かして様々な細胞からニューロン発火活動を記録するための装置)を自作した。麻酔下でマイクロドライブを頭蓋骨に設置する手術を行った。手術から回復後、上記行動課題中マウス嗅皮質から神経活動を記録した。記録システムは OpenEphys システムを用いた。マウスの行動をカメラにて記録すると共に、タスクの進行やポートへの出入りなどの情報を記録システムと同期させることで、ニューロン発火活動記録と動物の行動記録を同期させた。

(3) 光遺伝学的手法と電気生理学的手法を用いた、in vivo での特定細胞の同定とその電気生理学的特性の解析

光遺伝学的手法を用いた、対象ニューロンのラベリング

光刺激で細胞を脱分極させるチャンネルロドプシン(ChR2)を対象細胞特異的に発現させた。具体的には、視床下部外側野に逆行性に感染し ChR2 と確認用蛍光タンパクを発現するアデノ随伴ウイルス (AAVrg-hSyn-ChR2-GFP) を対象領域に投与した。

in vivo で目的細胞からニューロン発火活動の記録

マイクロドライブを改良し、テトロード電極と光ファイバーを同一脳領域に設置できるマイクロドライブを開発した。このマイクロドライブを装着したマウスを用い、(1) - の行動課題を行わせ、ニューロン発火活動を記録した。記録後、設置した光ファイバーを通じて光を当て、応答が返ってくるかどうかで記録細胞の中から ChR2 を発現するニューロンを特定した。この方法により記録ニューロンの中から視床下部外側部に直接投射するニューロンを同定した。

(4) 光遺伝学的手法と電気生理学的手法を組み合わせた入力抑制

光を当てると細胞を過分極にし、活動電位を抑制するアーキロドプシン (Arch) をアデノ随伴ウイルス (AAV2-hSyn-eArch3.0-eYFP) を用いて内側前頭前野 (mPFC) に発現させた。テトロード電極と光ファイバーを同一脳領域に設置できるマイクロドライブを腹側テニアテクタ (VTT) に挿入し、VTT のニューロン活動を記録しつつ VTT に光を当てることによって VTT に投射する mPFC の軸索の活動を抑制した。

4. 研究成果

(1) VON の機能解析

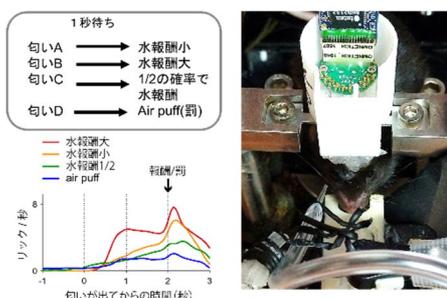


図1：頭部固定下学習行動課題

視床下部外側野に投射する VON ニューロンを in vivo で同定しその機能を明らかにするために、光遺伝学的手法と電気生理学的手法を組み合わせた記録法を用い、頭部固定下で匂いと報酬/罰の条件付け課題遂行中の VON ニューロンの特性を検証した。まず、頭部固定下において、4種類の匂いとそれぞれ異なる報酬/罰を組み合わせる行動課題を確立した。訓練方法などを工夫することで、訓練開始から数日で学習の成立の指標である報酬期待リック行動が観察されるようになった(図1)。このマウスの VON からニューロン活動を記録しつつ、視床下部外側野に投射するニューロンの同定を試みたが、ChR2 発現細胞が非常に少ないこと、VON 自体も非常に小さい領域であることから、

ほとんどニューロンの同定に至らなかった。解析をするためのニューロン数を十分に集めるべく、今後も研究を進めていく予定である。

(2) 前部扁桃皮質核 (ACo) の機能解析

ACo も VON と同様に視床下部に直接投射する領域であるが機能は全く不明であった。本領域の機能を明らかにするため、匂いを手掛かりとした Go/No-go 学習課題中のマウス ACo のニューロン活動を記録した。その結果、ACo の多くのニューロンが、報酬がもらえる匂いを嗅いだ時と、報酬がもらえる直前の待機時間の 2 か所で応答することが分かった(図2)。この結果から ACo のニューロンは、匂いとそれに紐づいた報酬期待情報を連合する機能があると推察される(論文1)。

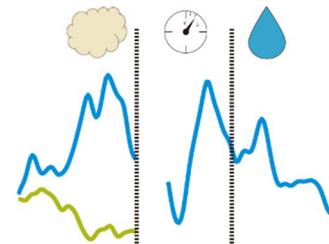


図2：ACo ニューロンの応答

(3) 外側嗅索核 (NLOT) の機能解析

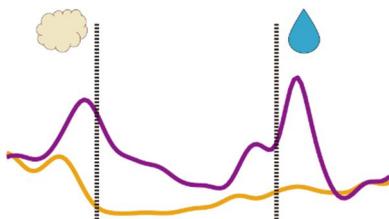
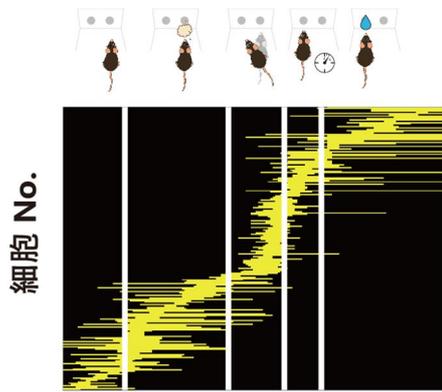


図3：NLOT ニューロンの応答

NLOT は、ACo のすぐ隣に位置し、ACo と同様に扁桃皮質核に属する領域であり、嗅皮質亜領域としても分類されるが機能が不明である領域である。本領域の機能を明らかにするため、匂いを手掛かりとした Go/No-go 学習課題中のマウス NLOT のニューロン活動を記録した。その結果、NLOT の多くのニューロンが、報酬と結びついた匂いと報酬を得た時の 2 か所で応答することが分かった(図3)。この結果から NLOT ニューロンは、匂いとそれに基づいた報酬情報を連合する機能があると考えられる(論文2)。

(4) 腹側テニアテクタ (VTT) の機能解析

VTT は、VON や NLOT などの他の嗅皮質亜領域に直接投射する嗅皮質亜領域であるが、その機能は全く不明であった。本領域の機能を明らかにするため、匂いを手掛かりとした Go/No-go 学習課題中のマウス VTT のニューロン活動を記録した。VTT は嗅球のすぐ尾側にあり嗅球から直接入力を受けるにもかかわらず、匂いに対して応答するニューロンは少なかった。そのかわり、マウスが匂いポートに移動する際や、報酬を待っているとき、実際に報酬を得た時など、特定の行動状態で特異的に応答するニューロンがたくさん見つかった。これらのニューロンを集めてくると、すべての行動状態をカバーすることが分かった。すなわち、VTT のニューロンは一連の学習行動に関わるすべての行動状態を表象することが分かった(図4、論文3)。



VTT ニューロンで見られた行動状態依存的な応答は、末梢からの嗅覚入力だけでは説明できないため、高次野からのトップダウン入力が予想された。VTT は内側前頭前野 (mPFC) から直接入力を受けるため、この経路によって行動状態情報がもたらされると考えられた。そこで、光遺伝学的手法と電気生理学的手法を組み合わせた手法を用いて mPFC から VTT への入力を抑制した。その結果、各行動状態に応答する多くのニューロンの活動が抑制された。この結果から、VTT の行動状態情報は mPFC からもたらさることが分かった。すなわち VTT は、mPFC からの行動状態情報を他の嗅皮質亜領域へ送る役割があると推定された。

図 4 : VTT ニューロンの応答

引用論文

- 1 . Shiotani K, Tanisumi Y, Hirokawa J, Sakurai Y, Manabe H, Encoding of odor information and reward anticipation in anterior cortical amygdaloid nucleus. *BioRxiv*. 390740, 2020.
- 2 . Tanisumi Y, Shiotani K, Hirokawa J, Sakurai Y, Manabe H, Bi-directional encoding of context-based odors and behavioral states by the nucleus of the lateral olfactory tract. *iScience*. 1023810, 2021.
- 3 . 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*. 9, e57268, 2020.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Tanisumi Yuta, Shiotani Kazuki, Hirokawa Junya, Sakurai Yoshio, Manabe Hiroyuki	4. 巻 24
2. 論文標題 Bi-directional encoding of context-based odors and behavioral states by the nucleus of the lateral olfactory tract	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 102381 ~ 102381
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2021.102381	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 眞部 寛之	4. 巻 27
2. 論文標題 総説 日本味と匂学会第53回大会シンポジウムより 匂い情報を適切な行動に変換するための回路機構に着目した嗅皮質の機能解析	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本味と匂学会誌	6. 最初と最後の頁 63 ~ 69
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18965/tasteandsmell.27.2_63	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 -
1. 著者名 Shiotani Kazuki, Tanisumi Yuta, Murata Koshi, Hirokawa Junya, Sakurai Yoshio, Manabe Hiroyuki	4. 巻 9
2. 論文標題 Tuning of olfactory cortex ventral tenia tecta neurons to distinct task elements of goal-directed behavior	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.57268	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Murata Koshi, Kinoshita Tomoki, Fukazawa Yugo, Kobayashi Kenta, Kobayashi Kazuto, Miyamichi Kazunari, Okuno Hiroyuki, Bito Haruhiko, Sakurai Yoshio, Yamaguchi Masahiro, Mori Kensaku, Manabe Hiroyuki	4. 巻 9
2. 論文標題 GABAergic neurons in the olfactory cortex projecting to the lateral hypothalamus in mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7132
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-43580-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Tanisumi, Y., Shiotani, K., Osako, Y., Ohnuki, T., Takamiya, S., Hirokawa, J., Sakurai, Y. and Manabe, H.
2. 発表標題 Odor-evoked behavioral signal map in each olfactory cortex subarea: ventral tenia tecta, the nucleus of the lateral olfactory tract, and anterior cortical amygdaloid nucleus.
3. 学会等名 51st Society for Neuroscience Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 塩谷和基・谷隅勇太・廣川純也・櫻井芳雄・眞部寛之
2. 発表標題 風味弁別に内側前頭前野が重要な役割を果たす
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 谷隅勇太・塩谷和基・廣川純也・櫻井芳雄・眞部寛之
2. 発表標題 嗅皮質亜領域ごとに異なる、匂い-行動シーン応答
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tanisumi Yuta, Shiotani Kazuki, Hirokawa Junya, Sakurai Yoshio, Manabe Hiroyuki
2. 発表標題 Olfactory Cortex Neurons Encode Cue Odor Signals and Predicted Behavioral Scene Signals
3. 学会等名 FENS Forum 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 福本 慎吾、北村 菜々、江原 健悟、谷隅 勇太、廣川 純也、櫻井 芳雄、木津川 尚史、塩谷 和基、眞部 寛之
2. 発表標題 扁桃体領域である前扁桃野ニューロンの匂い弁別行動課題における役割
3. 学会等名 第1回JASTS若手の会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 福本 慎吾、北村 菜々、江原 健悟、谷隅 勇太、廣川 純也、櫻井 芳雄、木津川 尚史、塩谷 和基、眞部 寛之
2. 発表標題 匂い弁別行動課題における前扁桃野ニューロンの機能解明
3. 学会等名 2022年度 日本味と匂学会第56回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 北村 菜々、福本 慎吾、江原 健悟、谷隅 勇太、廣川 純也、櫻井 芳雄、木津川 尚史、塩谷 和基、眞部 寛之
2. 発表標題 前部扁桃皮質核における匂い情報と行動の関連性の解明
3. 学会等名 2022年度 日本味と匂学会第56回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 池戸 優希、村田 航志、領 家崇、塩谷 和基、眞部 寛之、黒田 一樹、吉村 仁志、深澤 有吾
2. 発表標題 ラット超音波発声によるおいしさ反応測定の試み
3. 学会等名 2022年度 日本味と匂学会第56回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 塩谷 和基、谷隅 勇太、村田 航志、大迫 優真、大貫 朋哉、高宮 涉吾、廣川 純也、櫻井 芳雄、眞部 寛之
2. 発表標題 自由行動下のマウスにおける風味弁別行動課題
3. 学会等名 NEURO2022(第45回 日本神経科学大会・第65回 日本神経化学会大会・第32回 神経回路学会大会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 谷隅 勇太、塩谷 和基、大迫 優真、大貫 朋哉、高宮 涉吾、廣川 純也、櫻井 芳雄、眞部 寛之
2. 発表標題 感覚皮質ニューロンのバラエティ豊かな行動状態表象とその機能
3. 学会等名 NEURO2022(第45回 日本神経科学大会・第65回 日本神経化学会大会・第32回 神経回路学会大会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuta Tanisumi, Kazuki Shiotani, Yuma Osako, Tomoya Ohnuki, Shogo Takamiya, Junya Hirokawa, Yoshio Sakurai, Hiroyuki Manabe
2. 発表標題 Prefrontal to olfactory cortex ventral tenia tecta inputs share odor-evoked behavioral-state signals to affect context-dependent learning
3. 学会等名 FENS Forum 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 福本 慎吾、北村 菜々、江原 健悟、谷隅 勇太、廣川 純也、櫻井 芳雄、木津川 尚史、塩谷 和基、眞部 寛之
2. 発表標題 匂い情報処理過程における前扁桃野の機能
3. 学会等名 日本生理学会第100回記念大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yuta Tanisumi, Kazuki Shiotani, Junya Hirokawa, Yoshio Sakurai, Hiroyuki Manabe
2. 発表標題 Wide range of behavioral state tunings and the functions in sensory cortex
3. 学会等名 Society for Neuroscience 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 眞部寛之	4. 発行年 2020年
2. 出版社 技術情報協会	5. 総ページ数 543
3. 書名 においのセンシング、分析とその可視化、数値化 第1章第5節 匂いを感じる脳の仕組みと神経回路メカニズム	

〔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
研究分担者	村田 航志 (Murata Koshi) (10631913)	福井大学・学術研究院医学系部門・助教 (13401)	

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
---------	---------