

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 5 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24300118

研究課題名(和文) 嗅覚行動と睡眠による嗅球新生神経細胞の組み込みと排除機構の解明

研究課題名(英文) Mechanisms of integration and elimination of adult-born olfactory bulb neurons during olfactory behavior and sleep

研究代表者

山口 正洋 (Yamaguchi, Masahiro)

東京大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：60313102

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,100,000円

研究成果の概要(和文)：嗅覚一次中枢の嗅球では神経細胞が新しく生まれている。我々はこれまで、マウス嗅球新生神経細胞の生死選別が摂食とその後の休眠行動に伴って促進することを見出してきた。

本研究により、睡眠時の嗅皮質からのトップダウン性シナプス入力嗅球新生神経細胞の選別を促進すること、新生神経細胞のシナプス構造が摂食・休眠行動中に著しく変化すること、更にマウスの恐怖応答時にも嗅皮質からのトップダウン性シナプス入力によって新生神経細胞の選別が促進することを明らかにした。細胞選別機構の理解が「覚醒・睡眠」から「末梢性・トップダウン性シナプス入力統合」へと、より普遍的な概念に基づくものに発展した。

研究成果の概要(英文)：In the olfactory bulb (OB), neurogenesis continues even in adult. We previously found that selection of new OB neurons between survival and death is promoted during food eating and subsequent sleep.

In this project, we have revealed that 1) top-down synaptic inputs from the olfactory cortex to the OB play crucial roles in the cell selection 2) structure of dendritic protrusions of new OB neurons drastically changes during feeding-sleep and 3) the cell selection is also promoted during fear responses of mice depending on the top-down inputs from the olfactory cortex. These observations enabled us to understand the mechanism of new OB neuron selection with regard to the integration of bottom-up sensory inputs from the periphery and top-down inputs from the olfactory cortex, which can occur during various behaviors of animals.

研究分野：神経科学

キーワード：嗅球 神経新生 シナプス構造 睡眠 末梢性入力 トップダウン性入力

1. 研究開始当初の背景

(1) 通常、大人になると新しい神経細胞は生まれることはないが、嗅覚系では常に新しい神経細胞が生まれている。嗅覚系一次中枢の嗅球では抑制性神経細胞である顆粒細胞が新生しているが、それらがすべて有効利用されるのではなく、約半数が生き残って神経回路に組み込まれ、残りは細胞死によって排除される。この細胞選別を通して、適切な新生顆粒細胞が神経回路を適切に組み替えていると考えられる。

(2) 新生顆粒細胞の選別メカニズムについては匂い経験の役割がよく知られており、豊富な匂い経験は生き残る新生顆粒細胞の割合を増し、匂い経験の欠如は排除される新生顆粒細胞の割合を増す(Yamaguchi and Mori, 2005)。また我々は近年、細胞選別が動物の特定の行動状態において促進されることを見出した。マウスの詳細な行動解析により、新生顆粒細胞の選別が食餌の後の休眠時、特に食後睡眠に伴って促進することを明らかにした(Yokoyama et al, 2011)。

(3) さらに我々は、睡眠中には嗅覚系の上位中枢である嗅皮質から嗅球に向かうトップダウン性シナプス入力が増進することを見出し、覚醒時に外界の匂い情報を検知している時と睡眠中では嗅覚情報の流れに大きな違いがあることを明らかにした(Manabe et al, 2011)。

2. 研究の目的

以上のことから我々は、嗅球の新生顆粒細胞の選別は、「覚醒時の摂食行動中の匂い経験による末梢からのシナプス入力」と「その後の睡眠時の嗅皮質からのトップダウン性シナプス入力」の2つのシナプス入力の統合によって起こるという「2段階モデル」を提唱した。本研究の目的は以下の通りである。

(1) 睡眠時の嗅皮質からのトップダウン性シナプス入力、嗅球新生顆粒細胞の選別促進シグナルであるかどうかを明らかにする。

(2) 睡眠時には、不要な新生顆粒細胞の排除だけでなく、必要な新生顆粒細胞の積極的な組み込みも起こっている可能性がある。新生顆粒細胞のシナプス構造に着目し、摂食、睡眠行動に伴ってどのようなシナプス構造の変化をおこすかを明らかにする。

(3) 観察されたシナプス構造変化や生死の選別を担う分子機構を明らかにする。新生顆粒細胞が匂い経験の有無を検知する分子機構、新生顆粒細胞がトップダウン性シナプス入力によって選別される分子機構を明らかにする。

神経細胞の可塑的变化が行動中の動物の脳内でどのように調節され、動物の適切な行動に寄与しているかはほとんど分かっていない。本研究はこの理解を大きく推進するものである。

3. 研究の方法

(1) 嗅皮質から嗅球へのトップダウン性シナプス入力を電気刺激によって促進し、また薬剤投与によって抑制することで、睡眠時の嗅皮質からのトップダウン性シナプス入力が増進するかどうかを、嗅球新生顆粒細胞の選別に果たす役割を検討する。

(2) ウイルスを用いて新生顆粒細胞を蛍光蛋白標識する。マウスの嗅覚行動とその後の休眠行動に対応して、標識された新生顆粒細胞のシナプス形態がどのように変化するかを観察する。

(3) 新生顆粒細胞のシナプス形態変化を担う分子機構を、候補分子の発現解析とそのアゴニスト・アンタゴニスト投与などによって検討する。

4. 研究成果

(1) 睡眠時の嗅皮質からのトップダウン性シナプス入力が増進するかどうかを、嗅球新生顆粒細胞の選別に果たす役割の解明

嗅皮質の電気刺激により嗅球新生顆粒細胞の選別が増進し、嗅皮質への GABA 受容体アゴニスト局所投与による食後睡眠時の嗅皮質の神経活動抑制によって選別が阻害された。このことから、嗅皮質からのトップダウン性シナプス入力が増進する主要なシグナルであることを明らかにした。また、匂い入力遮断による細胞死の促進も嗅皮質からのトップダウン性シナプス入力に依存して起こることを明らかにした。匂い入力遮断の場合でもトップダウン性シナプス入力は匂い入力非遮断時と同程度に起こっており、匂い入力遮断嗅球の新生顆粒細胞はトップダウン性シナプス入力に対して細胞死を起こしやすくなっていると考えられた (Komono-Inoue et al, 2014)。

(2) 摂食、睡眠行動に伴う新生顆粒細胞のシナプス形態変化の検討

レンチウイルスを用いて GFP 標識された嗅球顆粒細胞の樹状突起のシナプス構造が、摂食・睡眠という行動様式に伴ってどのように変化するかを調べた。摂食前にはシナプス前駆体である filopodia 構造の形成が多く観察された。一方、摂食・睡眠行動中には成熟したシナプスの形態である spine 構造の形成が多く観察された。以上のことから、嗅球顆粒細胞の樹状突起のシナプス構造が行動状態依存的に大きく変化し、摂食・睡眠行動中に filopodia から spine への成熟が促進されると考えられた。

また、鼻孔閉塞によって匂い入力遮断を行った嗅球では、摂食前には新生顆粒細胞のシナプス構造の密度は低かったが、摂食・睡眠中にその密度が増加した。このことから、匂い入力を遮断した場合でも摂食・睡眠中に新生顆粒細胞のシナプス構造が一時的に形成されるが、それが安定したシナプス形成に至らないと考えられた。

(3) 摂食時のノルアドレナリンシグナルの役割の理解

嗅覚行動中には様々な神経調節因子の働きが促進し、ノルアドレナリンシグナルもその一つである。マウスに摂食行動をとらせる代わりにノルアドレナリンを全身投与すると、その後の睡眠時に新生顆粒細胞の選別が促進した。このことから、嗅覚行動中のノルアドレナリンシグナルがその後の睡眠時の細胞選別に促進的に働いていると考えられた。しかし、嗅球にノルアドレナリンのアンタゴニスト・アゴニストを投与しても、その後の睡眠時の新生顆粒細胞の選別には変化が見られなかった。ノルアドレナリンの嗅球以外の領域への働きが重要であると考えられ、嗅皮質へのノルアドレナリンシグナルがトップダウン性シナプス入力の性質を変化させる可能性が考えられた。

(4) 恐怖行動による嗅球新生顆粒細胞の選別促進

食後の睡眠時以外の行動時にも嗅球新生顆粒細胞の選別促進が起こるかどうかを検討するため、マウスに電気ショック刺激による恐怖誘導を行った。電気ショックの直後にマウスは典型的な恐怖応答(すくみ行動など)を示し、その短時間(10分以内)の間に嗅球新生顆粒細胞の選別が促進した。また、この選別も嗅皮質からのトップダウン性シナプス入力に依存して起こっていた。(Komano-Inoue et al, 2015)

このことから、嗅球新生顆粒細胞の選別は食後睡眠時に限らず様々な行動時に、嗅皮質からのトップダウン性シナプス入力によって促進されることが判明し、「摂食行動と睡眠による嗅球新生顆粒細胞の選別」という概念から、「末梢からのシナプス入力と嗅皮質からのトップダウン性シナプス入力の統合による嗅球新生顆粒細胞の選別」という、より一般化した概念に基づいて理解することが可能となった。この観点から、それぞれのシナプス入力を実験的に操作して細胞選別の分子メカニズムを明らかにしていく今後の研究の方向性を明確にすることができた。

引用論文

Yamaguchi M, Mori K. Critical period for sensory experience-dependent survival of newly generated granule cells in the adult mouse olfactory bulb. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 102: 9697-9702 (2005)

Yokoyama TK, Mochimaru D, Murata K, Manabe H, Kobayakawa K, Kobayakawa R, Sakano H, Mori K, Yamaguchi M. Elimination of adult-born neurons in the olfactory bulb is promoted during the postprandial period. *Neuron*. 71: 883-897 (2011)

Manabe H, Kusumoto-Yoshida I, Ota M, Mori K. Olfactory cortex generates synchronized top-down inputs to the olfactory bulb during slow-wave sleep. *Journal of Neuroscience*. 31: 8123-8133 (2011)

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)

[雑誌論文](計 7 件)

(* : corresponding author)

1. Komano-Inoue S, Murata K, Mori K, *Yamaguchi M. Rapid induction of granule cell elimination in the olfactory bulb by noxious stimulation in mice. *Neuroscience Letters*. **598**, 6-11 (2015) doi: 10.1016/j.neulet.2015.05.002. 査読有

2. Komano-Inoue S, Manabe H, Ota M, Kusumoto-Yoshida I, Yokoyama TK, Mori K, *Yamaguchi M. Top-down inputs from the olfactory cortex in the postprandial period promote elimination of granule cells in the olfactory bulb. *European Journal of Neuroscience*. **40**: 2724-2733 (2014) doi: 10.1111/ejn.12679. 査読有

3. Klein D, Meissner N, Kleff V, Jastrow H, Yamaguchi M, Ergün S, *Jendrossek V. Nestin(+) tissue-resident multipotent stem cells contribute to tumor progression by differentiating into pericytes and smooth muscle cells resulting in blood vessel remodeling. *Frontiers in Oncology*. **4**: article 169 (p1-11) (2014) doi: 10.3389/fonc.2014.00169. 査読有

4. Sakamoto M, Ieki N, Miyoshi G, Mochimaru D, Miyachi H, Imura T, Yamaguchi M, Fishell G, Mori K, Kageyama R, *Imayoshi I. Continuous postnatal neurogenesis contributes to formation of the olfactory bulb neural circuits and flexible olfactory associative learning. *Journal of Neuroscience*. **34**: 5788-5799 (2014) doi: 10.1523/JNEUROSCI.0674-14.2014. 査読有

5. *Yamaguchi M, *Mori K. Critical periods in adult neurogenesis and possible clinical utilization of new neurons. *Frontiers in Neuroscience*. **8**: article 177 (p1-3) (2014) doi: 10.3389/fnins.2014.00177. 査読有

6. *Yamaguchi M, Manabe H, Murata K, *Mori K. Reorganization of neuronal circuits of the central olfactory system during postprandial sleep. *Frontiers in Neural Circuits*. **7**: article 132 (p1-16) (2013) doi: 10.1186/1471-2202-13-140. 査読有

7. Bepari AK, Watanabe, K, Yamaguchi M, Tamamaki, N, *Takebayashi H. Visualization of odor-induced neuronal activity by immediate early gene expression. *BMC Neuroscience*. **13**: 140-156 (2012) doi: 10.1186/1471-2202-13-140. 査読有

〔学会発表〕(計 18 件)
(以下はシンポジウム講演のみ記載)

1. 山口正洋 嗅覚系神経ネットワークにおける嗅球新生ニューロンの理解 第120回日本解剖学会総会・全国学術集会/第92回日本生理学会大会 2015年3月23日 神戸国際会議場(神戸)
2. 山口正洋 嗅覚学習を担う嗅覚神経回路の可塑性機構 嗅覚神経回路と行動発現のメカニズム - 森憲作教授退官記念シンポジウム - 2015年2月28日 東京大学鉄門記念講堂(東京)
3. 山口正洋 嗅覚系ニューロン新生と嗅覚神経回路の可塑性 第7回香りと味に関する産学フォーラム 2014年11月7日 東京大学山上会館(東京)
4. Masahiro Yamaguchi. Sensory experience- and behavioral state-dependent selection of adult-born olfactory bulb neurons. Workshop on Sensory Systems 2014年1月30日 東京工業大学(東京)
5. 山口正洋 成体嗅覚系における神経細胞の入れ替わり機構 第86回日本生化学会 2013年9月11-13日 パシフィコ横浜(横浜)
6. Masahiro Yamaguchi. Interaction between olfactory bulb and olfactory cortex in the reorganization of the olfactory circuit. 第35回日本神経科学大会 2012年9月18-21日 名古屋国際会議場(名古屋)
7. 山口正洋 嗅皮質からの top-down シグナルによる嗅球神経回路の再構成機構 包括型脳科学研究推進支援ネットワーク支援ワークショップ 嗅覚情報処理の神経基盤 - 匂い分子から嗅覚神経回路、行動・情動まで - (ワークショップオーガナイザー) 2012年9月15日 東京大学(東京)
8. 山口正洋 睡眠中におこる嗅覚神経回路の経験依存的な改編機構 第37回日本睡眠学会 2012年6月28-30日 パシフィコ横浜(横浜)

〔図書〕(計 2 件)

1. 山口正洋 嗅覚系: 感覚入力から行動に至る分子基盤と神経回路. 「分子脳科学」(三品昌美編), 化学同人, 2015, 76-88
2. Yamaguchi M. Interneurons in the olfactory bulb: roles in the plasticity of olfactory information processing. In: The olfactory system: from odor molecules to motivational behaviors (Ed: Mori K), Springer, 2014, 97-132

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:

出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1) 研究代表者
山口 正洋 (YAMAGUCHI, Masahiro)
東京大学大学院医学系研究科・講師
研究者番号: 60313102

(2) 研究分担者
()

研究者番号:

(3) 連携研究者
()

研究者番号: