

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 5 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791753

研究課題名(和文) 匂い源の左右方向感知機能に関わる嗅皮質領域ならびに投射経路の解明

研究課題名(英文) converging area underlying right or left localization of odor sources

研究代表者

菊田 周(Kikuta, Shu)

東京大学・保健・健康推進本部・助教

研究者番号：00555865

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：嗅覚情報は左右嗅上皮で別々に受け取られ、高次中枢で統合される。しかし、その統合様式の意義は不明である。同側嗅上皮(記録側)から興奮性入力を受け取り、対側嗅上皮からは抑制性入力を受け取る細胞群は、前嗅核吻外側領域に局在していた。この特性は、音源定位機能に関わる聴覚系の外側上オリブ核細胞の応答特性に似ていた。前嗅核細胞は、左右嗅上皮からの匂い入力の差分を検出し、匂い源の同定に関わると予想される。

研究成果の概要(英文)：The mammalian individual sensory systems integrate two right and left sensory inputs and generate accurate spatial representation of environmental cues. In olfactory systems, odors are inhaled through the nostrils into two segregated nasal passages and processed by two, right and left olfactory pathways. Anterior olfactory nucleus (AON) of the adult rat olfactory cortex receives axonal inputs from ipsi-lateral olfactory bulb and also receives inputs from contra-lateral olfactory cortex, suggesting binasal converging interaction from ipsi-lateral and contra-lateral olfactory epithelia (OEs). We showed that ipsi-excitatory and contra-inhibitory converging inputs (E-I type AON neurons) were selectively located in the AON Pars Externa (AONpE), the rostro-lateral subregion of the AON.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学 耳鼻咽喉科学

キーワード：嗅覚 嗅上皮障害

1. 研究開始当初の背景

(1) 生涯にわたり再生を繰り返す嗅細胞は、様々な要因によって、その生存ならびに成熟過程が影響を受ける。発達期において、新生嗅細胞の成熟に関わる重要な因子の1つは嗅覚入力であり、嗅覚入力遮断されると嗅細胞は成熟せずに、嗅上皮の恒常性は失われる。しかし、成体での新生嗅細胞の成熟に嗅覚入力がかどのように関わるかについては解明されていない。

(2) 我々哺乳類は、暗闇の中でも“匂い”が漂ってくる左右方向を、ひと嗅ぎで感知する機能を持っている。

申請者はこれまでに左右嗅上皮を分離刺激する方法を考案、確立し、電気生理学的手法を用いて、「左右鼻からの匂い情報が中枢でどのように統合されるのか」の解明に取り組んできた。その結果、同側嗅上皮匂い刺激に対しては、興奮性応答を示し、対側嗅上皮刺激に対しては抑制性応答を示す細胞 (E-I 細胞) が嗅皮質に存在することを見出した。この応答特性は、聴覚系の外側上オリブ核に存在し、音源定位機能に関わる細胞の電気生理学的応答特性に非常に似ていた。しかし、この E-I 特性を示す細胞が局在する嗅皮質領域については不明である。

2. 研究の目的

(1) 本研究の目的は、成体における新生嗅神経の生存ならびにその成熟過程に嗅覚入力がかどのような影響を及ぼすのかを明らかにすることである。この目的達成のために、嗅上皮障害後に新生する嗅細胞に注目し、その成熟過程における、嗅覚入力依存的な細胞動態の変化を観察する。具体的には次の3点を明らかにする。

1. 新生嗅細胞は嗅覚入力依存的に成熟する。
2. 適切な時期に嗅覚入力がないと、新生嗅細胞は成熟せずに細胞死に陥る。
3. 嗅上皮障害後の組織学的な不完全再生は「未熟な新生嗅細胞の細胞死」によって引き起こされる。

(2) 同側嗅上皮匂い刺激に対しては、興奮性応答を示し、対側嗅上皮刺激に対しては抑制性応答を示す細胞 (E-I 細胞) が局在する嗅皮質領域を同定することが目的である。

3. 研究の方法

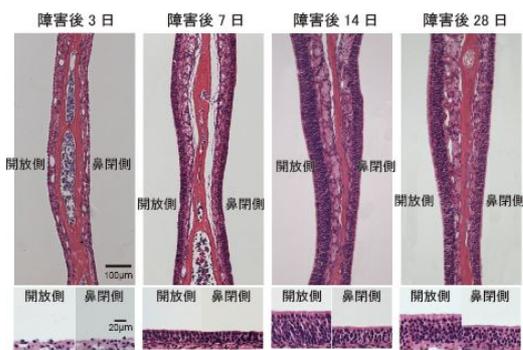
(1) C57BL/6 (10 週齢) マウスに対して、嗅毒性物質であるメチマゾールを腹腔内に投与した。さらに、障害後すぐに内腔を充填したシリコンチューブをマウス一側鼻腔に挿入し、片鼻閉マウスを作製した。各時間経過後 (障害 3、7、14、28 日後) 脳を PFA で還流固定し、パラフィン包埋する。5 μm の厚みで嗅上皮冠状断を作製し、嗅上皮の厚み、嗅細胞数を鼻閉側と開放側で比較した。また、抗 Olfacto Marker Protein (OMP) 抗体、抗 Ki67 抗体、抗 Caspase3 抗体を用いて、免疫組織学的に細胞動態を検討した。

(2) ガラス電極 (ビオチン化デキストランアミン, 10%) を嗅皮質に刺入し、単一細胞記録を行った。6 種類の異なる匂いカテゴリー (5%、エステル類、アルデヒド類、アルコール類、エーテル類、ラクトン類、サルファイド類) を使用し、左右嗅上皮刺激を行った。同側嗅上皮刺激のみならず、対側嗅上皮刺激に対しても応答を示し、両側性に匂い情報処理を行っていると思われる細胞を記録し、細胞を染色した。

4. 研究成果

(1)-1 新生嗅細胞は、嗅覚入力依存的に再生・成熟する。

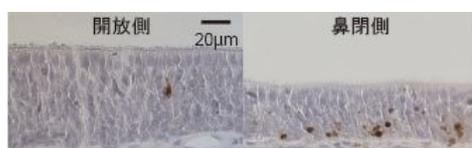
嗅上皮障害後の再生過程を継時的に観察した。障害後 14 日以降で、鼻閉側の嗅上皮が薄く、鼻閉側の嗅細胞数が開放側と比較して減少していた。さらに、成熟嗅細胞の指標となる Olfactory marker protein(OMP) 陽性細胞数も鼻閉側で減少していた。これは嗅細胞が嗅覚入力依存的に再生・成熟する可能性を示唆する。



障害後 3、7、14、28 日後の嗅上皮 (H-E 染色)
障害後 14 日以降で鼻閉側嗅上皮は薄く、細胞数も少ない。

(1)-2 適切な時期に嗅覚入力を受けないと、新生嗅細胞は成熟せずに細胞死に陥る。

鼻閉側嗅上皮でのカスパーゼ 3 陽性細胞数は障害後 7 日では開放側と比較して差はなかったが、障害後 14 日で、開放側と比較して増加していた。障害後 7-14 日は新生嗅細胞が軸索を伸ばし、嗅球でシナプスを形成、成熟する時期に一致する。障害後 7 日以降の嗅覚入力は、組織再生にとって重要な役割を果たし、この時期に嗅覚入力を受けないと、嗅細胞は成熟せずに細胞死に陥る可能性が示唆される。

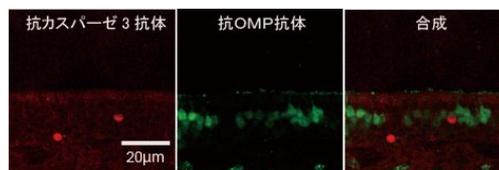


障害後 14 日嗅上皮、抗カスパーゼ3抗体 (DAB 発色)
鼻閉側嗅上皮でカスパーゼ 3 陽性細胞が増加していた。
(茶色 ; カスパーゼ3陽性細胞)

(1)-3 嗅上皮障害後の組織学的な不完全再生は「未熟な新生嗅細胞の細胞死」によって引き起こされる。

嗅覚入力が遮断された時、細胞死に陥る細胞は、成熟した嗅細胞ではなく、新生した未

熟な嗅細胞であった。



障害後 14 日、抗カスパーゼ3抗体 (赤) と抗OMP抗体 (緑) による蛍光二重染色。細胞死に陥る細胞は成熟嗅細胞ではなく、未熟嗅細胞である。

(2) “匂い源の左右方向感知機能” には、前嗅核領域が関わる。

同側嗅上皮への匂い刺激に対しては興奮性応答を示し、対側嗅上皮刺激に対しては抑制性応答を示す特徴を持った細胞群が、前嗅核吻外側領域に局在することを見つけた。この応答特性は、左右音源定位機能に関わる聴覚系の外側上オリブ核細胞の応答特性と似ており、左右嗅上皮からの匂い濃度差によって変化していた。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 1 件)

Shu Kikuta, Max Fletcher, Ryota Homma, Tatsuya Yamasoba, Shin Nagayama
Odorant response properties of individual neurons in an olfactory glomerular module
Neuron (査読有) vol.77, 2013, p1122-1135
<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2013.01.022>

[学会発表](計 8 件)

1. 菊田周、坂本幸士、近藤健二、金谷佳織、岩村均、鈴川佳吾、平野真希子、西嶋大宜、籠谷領二、森憲作、山嵜達也
嗅覚入力依存的な嗅上皮障害後の再生
第 52 回日本鼻科学会総会
2013 年 9 月 26-28 日 福井県福井市

2. Shu Kikuta, Takashi Sakamoto, Kenji Kondo, Hitoshi Iwamura, Kaori Kanaya, Keigo Suzukawa, Kensaku Mori, and Tatsuya Yamasoba
Olfactory sensory input-dependent incorporation of newly generated

olfactory sensory neurons following injury

2013年8月29-31日 東京都新宿区

3. Shu Kikuta

Neuronal responses for odor information processing in the anterior olfactory cortex

20th World Congress of the International Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies

2013年6月1-5日 Seoul, Korea

4. 菊田周、永山晋、山岨達也

マウス嗅球系球体層細胞と嗅神経の匂い分子受容範囲の比較

第114回日本耳鼻咽喉科学会総会

2013年5月15-16日 北海道札幌市

5. 菊田周、山岨達也

単一系球体に属する嗅球細胞群の匂い応答

第46回日本味と匂い学会

2012年10月3-5日 大阪府吹田市

6. 菊田周、坂本幸士、近藤健二、金谷佳織、馬場信太郎、平野真希子、森憲作

嗅上皮傷害後の再生過程における嗅覚入力的重要性

第51回日本鼻科学会

2012年9月27-29日 千葉県幕張市

7. 菊田周、山岨達也、Wei R.Chen

マウス単一系球に属する僧帽細胞群の異なる匂い応答

第113回日本耳鼻咽喉科学会総会

2012年5月10-12日 新潟県新潟市

8. Shu Kikuta, Tatsuya Yamasoba, Wei R. Chen

Distinct Odor Representation of

Individual Neurons within a Single Glomerulus Module in the Mouse Main Olfactory Bulb

第14回日韓耳鼻咽喉科学会

2012年4月12-14日 京都府京都市

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)
取得状況(計0件)

〔その他〕
なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

菊田 周(Kikuta, Shu)

東京大学・保健・健康推進本部・助教

研究者番号: 00555865