

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 1 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25430026

研究課題名(和文) キイロショウジョウバエ mushroom bodyにおける経験依存的な嗅覚情報認知

研究課題名(英文) Experience-dependent odor representations in the Drosophila mushroom body

研究代表者

遠藤 啓太 (ENDO, Keita)

国立研究開発法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・研究員

研究者番号：40425616

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：匂いの知覚を生み出す脳の情報処理機構を理解するために、回路構造が比較的単純なキイロショウジョウバエの嗅覚神経系をモデルとして用い、その一次中枢である触角葉と二次中枢であるキノコ体における匂い情報の脳内表現をカルシウムイメージングによって解析した。その結果、触角葉からキノコ体への匂い情報の変換によって、様々な特徴を持つ匂い分子や、様々な特徴を共有する匂い分子群の情報がそれぞれ独立に表現されるようになり、その結果、それら匂い分子の弁別や匂い分子群のカテゴリ分類が容易になることが明らかになった。これによって、自然界の多種多様な匂いを知覚することが可能になっていると考えられる。

研究成果の概要(英文)：To understand the circuit mechanisms of the olfactory system to generate odor perception, I conducted the functional calcium imaging of the intrinsic neurons in the secondary olfactory center, the mushroom body (MB) in the Drosophila brain, and compared the data with those in the primary olfactory center, the antennal lobe (AL). I found that many odorants were represented more independently in the MB, conferring downstream neurons more discriminability. In addition, many sets of odorants were also represented more independently from other odorants in the MB, allowing the downstream neurons to categorize those sets of odorants more accurately. Together, these results suggest that the MB extracts various odor features and represent them independently, allowing animals to perceive as many odorants in the nature as possible.

研究分野：神経情報科学

キーワード：感覚情報処理 嗅覚 脳内表現 弁別 カテゴリ分類 キノコ体 ショウジョウバエ カルシウムイメージング

1. 研究開始当初の背景

嗅覚は、化学刺激の受容とその情報処理に与る感覚神経機構であり、外界の匂い分子の情報をもとに、生物にとって意味のある匂いの知覚を脳内で生み出すことで、生物の行動決定に重要な役割を果たしている。しかしながら、視覚や聴覚など他の感覚神経機構が、それぞれ光の波長や音の周波数といった明確な物理特性に従ってその感覚情報を知覚しているのに対し、嗅覚では、その知覚すべき匂い分子は多種多様であることから、どのような機構でその多種多様な匂い情報を脳内で知覚することができるのか明らかになっていなかった。

匂い受容体がクローニングされたことで、多種多様な匂い分子が多種種類の匂い受容細胞によって検出される仕組みや、それら多種種類の匂い情報が、それぞれ独立して脳の一次嗅覚中枢へ伝えられる回路機構が明らかにされたものの、一次中枢で表現された匂い情報が、さらに高次の中枢へと伝えられる過程でどのような情報変換を受け、生物にとって意味のある匂いの知覚が生み出されるのか、その機構については依然として明らかになっていなかった。

多種多様な匂い情報が一次中枢の多数の細胞群に伝えられ、それらの情報が、さらに高次中枢の、より多くの細胞群へと伝えられていく過程において情報の変換機構を理解するためには、細胞群全体の神経活動を包括的に解析し、細胞群全体として表現された情報をその上流や下流の細胞群と比較する必要がある。

このような目的において、キイロショウジョウバエの嗅覚神経系は、非常によいモデル実験系である。キイロショウジョウバエの嗅覚神経系は、末梢から脳内の比較的高次な中枢へいたるまで、基本的な回路構造が脊椎動物と相同であり、神経回路の果たす情報処理の基本原理は進化的に保存されていると考えられる。それにもかかわらず、その情報処理に与る神経細胞は、脊椎動物と比べてはるかに少数であることから、その情報処理機構を、個々の細胞レベルで、かつ包括的に行うことが可能である。

キイロショウジョウバエの嗅覚神経系では、約50種類の匂い受容細胞がそれぞれ脳の一次嗅覚中枢(触角葉)の特定の区画(糸球体)へと軸索を投射し匂い情報を伝えている。触角葉の二次投射神経細胞は、それぞれ特定の糸球体の匂い情報を、さらに高次の脳領域である側角とキノコ体へと伝えている。側角では、餌の匂いを伝える二次投射神経細胞と配偶相手からのフェロモンの情報を伝える二次投射神経細胞がそれぞれ異なる領域へと接続することが示されていることから、匂いの情報は、この脳領域でその誘起する本能行動に従って分類され、例えば「好きな匂い」や「嫌いな匂い」と言った知覚を生み出していると考えられている。

一方、キノコ体は古くから「匂いの連合学習」に関わることが知られており、経験に依存した匂いの知覚に関わっていると考えられていた。しかし、キノコ体では側角に見られるような匂いの種類と相関した領域性は見られておらず、また、触角葉の二次投射神経細胞とキノコ体の介在神経細胞(ケニオン細胞)との接続はランダムであることも示唆されていることから、キノコ体が匂いの情報をどのようにコードし、そのコードされた匂い情報が知覚の形成にどのように関わるのかは分っていなかった。

2. 研究の目的

本研究は、匂いの知覚を生み出す脳の情報処理機構を理解するために、キイロショウジョウバエの嗅覚神経系をモデルとして、とりわけ経験に依存した匂いの知覚に関わるキノコ体において、匂い情報がどのようにコードされ、その匂い表現が経験依存的にどのように変化し、その結果、匂いの知覚にどのように寄与するのか明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) キノコ体の匂い刺激に対する神経応答を包括的に記録するために、カルシウムプローブを約2,000個全てのケニオン細胞で発現させ、二光子励起レーザー顕微鏡を用いて高速三次元ボリュームイメージングを行った。また、この結果を同様のイメージング手法を用いて記録した触角葉の糸球体の匂い応答データと比較することで、触角葉からキノコ体への情報変換を解析した。

神経応答を記録するための匂い分子は、キイロショウジョウバエにとって誘因性のもの、忌避性のもの、そのいずれでもないものを含む15種類の匂い分子セット、2種類の匂い分子の混合物の混合比を100:0から0:100まで段階的に変えたセット、および、希釈倍率を 10^{-5} から 10^{-1} まで段階的に変えた匂い分子セットを用いた。

イメージングによって記録された触角葉の糸球体、および、キノコ体のケニオン細胞の匂い応答データは、主成分分析によってその匂い表現を可視化し、さらに、線形分類器を用いて、匂いの弁別能を定量的に比較した。

クラスター分析によって、触角葉の糸球体とキノコ体のケニオン細胞それぞれの匂い応答パターンを類型化し、さらに、線形分類器による匂いの弁別能の評価を、個々のクラスターの匂い応答パターンと関係づけることで、細胞レベルでの匂い表現とその匂いの知覚との関係を解析した。

コンピューター上で触角葉からキノコ体への匂いの情報変換をシミュレーションし、適切な情報変換に必要な回路機構を推定した。

4. 研究成果

(1) 15種類の匂い分子セットに対する触角葉とキノコ体の匂い応答を主成分分析で可視化して比較した結果、触角葉では様々な匂い分子の情報が、比較的少数の主成分に互いに重複して表現されているのに対して、キノコ体では、異なる特徴的な匂い分子の情報が、それぞれ異なる主成分に独立して表現される傾向が見られた。したがって、触角葉からキノコ体へ匂い情報が伝わる過程で、互いをより弁別し易い表現に変換されることが示唆された。次に、線形分類器を用いて、触角葉とキノコ体とで匂いの弁別能を定量的に比較したところ、多くの匂いで、キノコ体における匂い表現の方がより高い弁別能を示した。

触角葉からキノコ体へのこのような匂いの情報変換は、キノコ体の個々のケニオン細胞が触角葉に表現された匂い情報の一部とランダムに接続し、さらに、共通の特徴をもつ複数の入力を受けて初めて活動電位を発生することによると考えられた。そこで、触角葉の匂い応答をもとにキノコ体の匂い応答をコンピューターでシミュレーションした結果、高い弁別能を得るためには、キノコ体の個々のケニオン細胞が触角葉の少数の糸球体からランダムに入力を受けること、触角葉からキノコ体への総入力量に応じて、キノコ体の個々の神経活動が全体的に抑制されること、および、キノコ体のケニオン細胞が活動電位を発生するための閾値が設定されていることが重要であることが明らかになった。

(2) 触角葉とキノコ体の匂い応答を主成分分析で比較した結果、キノコ体では、異なる匂いが異なる主成分に分離するだけでなく、様々な組み合わせの複数の匂いが、それぞれ単一の主成分にまとめて表現される傾向も見られた。この結果から、触角葉からキノコ体への情報変換は、個々の匂い情報を選び分けて弁別能を高めるだけでなく、特定の特徴を持つ匂い群（例えばアルコール類）のカテゴリ分類にも寄与することが示唆された。そこで、以下の3つの解析を行い、キノコ体のカテゴリ分類能を評価した。

15種類の匂い分子セットから、無作為に3つ、もしくは4つの匂い分子を選び、線形分類器を用いて、触角葉とキノコ体が、選択した分子群とそれ以外とをカテゴリ分類する能力を定量的に比較した。この解析を、全ての匂い分子の組み合わせについて行ったところ、キノコ体のカテゴリ分類能が触角葉に比べて有意に高い匂い分子の組み合わせが数多く検出されたが、逆のものはなかった。

異なる混合比の匂いの混合物セットに対する触角葉とキノコ体の匂い応答を主成分分析で比較した結果、触角葉では、混合物は、その混合比に従って主成分空間上均等に分布するが、キノコ体では混合物間の匂い応答の差が小さくなり、逆に、構成分子単独の匂い応答との差が大きくなった。そこで、線形分類器を用いて、触角葉とキノコ体が「混合物」と「構成分子」とをカテゴリ分類する能力を定量的に比較すると、キノコ体では、混合物はその混合比に関わらず、より高い確度で「混合物」として分類されることが分かった。

クラスター分析によって、混合物にのみ応答するような細胞や、混合比によらず、比較的一定に応答する細胞が触角葉に比べてキノコ体により多く存在することが示された。また、キノコ体のカテゴリ分類能は、このようなケニオン細胞に依存していることが示された。さらには、触角葉の匂い応答をもとにシミュレーションしたキノコ体でも、同様な匂い応答をする細胞がつくられることが分かった。

異なる希釈倍率の匂いセットを2つの異なる匂いについて用意し、これらの匂いに対する触角葉とキノコ体の匂い応答を主成分分析で比較した結果、触角葉では濃度が低くなると、二つの異なる匂い応答が接近してしまうのに対し、キノコ体では、低濃度でも異なる匂いが互いに独立して表現されていることが分かった。そこで、線形分類器を用い、触角葉とキノコ体が二つの匂いを濃度に関わらず弁別する能力を定量的に比較した結果、キノコ体では低濃度でも高い弁別能が保たれるのに対し、触角葉では濃度が低いと弁別が困難になることが明らかになった。

クラスター分析によって、低濃度でも二つの匂いに対する応答が異なる細胞が触角葉に比べてキノコ体により多く存在することが示された。また、キノコ体の濃度によらない弁別は、このようなケニオン細胞に依存していることが示された。さらには、触角葉の匂い応答をもとにシミュレーションしたキノコ体でも、同様な匂い応答をする細胞がつくられることが分かった。

これらの結果から、触角葉からキノコ体への情報変換によって、様々な特徴をもつ匂い分子や、様々な特徴を共有する匂い分子群の情報が、それぞれ、より独立に表現されるようになり、それらの弁別やカテゴリ分類が容易になることが示された。

つまり、キノコ体は多様な匂い情報を、様々な特徴をもとに分類・抽出し、それぞれ独立に表現する働きがあると言える。これにより、自然界の多種多様な匂いを知覚するこ

とが可能になっていると考えられる。

(3) 当初の計画では、キノコ体における匂い表現が経験依存的にどのように変化するかを解析する予定であった。しかし、この解析に関しては、残念ながら、明確な変化を再現性高く観察することができなかった。

近年、キノコ体の下流にある出力神経細胞が同定され、ケニオン細胞とこの出力神経細胞との間のシナプス結合がドーパミン作動性神経細胞の働きによって可塑的に変化することで、個々のケニオン細胞にコードされた特定の匂い情報と、個々の出力神経細胞の担う「誘因」もしくは「忌避」といった「生物学的な意味」とが紐付けられることが示唆された。つまり、キノコ体の脳内表現自体は経験依存的に変化するわけではなく、あくまで、出力神経細胞と紐付けられるケニオン細胞が経験依存的に変わること、結果として生じる知覚が変化する可能性がある。

一方で、より長期的な経験によって、匂いのカテゴリ分類の範囲が変化する可能性はあると思われる。実際、脊椎動物の嗅覚神経系においてキノコ体に相当する梨状皮質では、主な介在神経細胞である錐体細胞の匂い応答が経験依存的に調節されること、また、経験依存的に匂いカテゴリの範囲が変化することで他の似た匂い弁別できるようになったり、逆に、他の異なる匂いと汎化されたりすることが知られている。従って、キノコ体においても、適切な実験条件を見つけることで、この可能性を検証することができると思われる。

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 0件)

〔学会発表〕(計 1件)

遠藤啓太「Categorization of olfactory information in the *Drosophila* mushroom body」、第38回日本神経科学大会、2015年7月29日、神戸国際展示場(兵庫県・神戸市)ポスター発表

6. 研究組織

(1)研究代表者

遠藤 啓太 (ENDO, Keita)
国立研究開発法人理化学研究所・脳科学
総合研究センター・研究員

研究者番号：40425616

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者
なし