

平成 18 年度 海外留学補助金による研究経過、成果報告

山梨大学医学部 生化学講座第一教室 萩原 明

1. セロトニンによる匂い情報の調節機構

視覚、触覚など様々な感覚情報の中で、嗅覚すなわち匂いの情報は、まず匂い分子が嗅細胞の受容体に結合することでこれらの細胞を活性化し開始されます。その後、匂い情報は嗅球の僧帽細胞を介してさらに高次の脳領域へと伝達され、他の神経入力と統合されながら、例えば食べ物の匂いは摂食行動を誘起し、一方天敵の匂いは忌避行動を示すなど、様々な行動として出力されます。

嗅細胞が嗅球において僧帽細胞に匂い情報を伝達する場合は糸球体と呼ばれ、特定の匂い分子に対応する嗅細胞の軸索は、特定の糸球体に集合し情報を伝達することが知られています。そこで、糸球体での神経活動を測定するため、*synaptopHluorin* という蛍光蛋白質を嗅細胞特異的に発現させ、蛍光強度の増減によってシナプス伝達に対するセロトニンの作用を観察しました。

その結果、嗅細胞からのシナプス入力は、セロトニンの作動薬によって減少し、一方阻害薬によって上昇することを見出しました (Fig.1)。しかしながら、嗅細胞のシナプスはセロトニンに対する受容体を発現しておらず、受容体は糸球体を取り囲むように位置する *juxtglomerular cell* と呼ばれる細胞に発現していることがわかりました。したがって、セロトニンはまずこれら *juxtglomerular cell* を活性化し、*GABA* と呼ばれる抑制性の神経伝達物質を放出させ、その *GABA* が嗅細胞のシナプス前終末に存在する *GABA_B* 受容体に結合することで、シナプス伝達を制御していることがわかりました。これらの作用は薬剤投与を用いた場合だけでなく、セロトニン細胞が存在する *dorsal raphe nucleus* (DRN) という部分を電気刺激した際にも同じように作用することを示し、生理的に放出されるセロトニンが匂い情報の調節に関与していることを明らかにしました (Nature Neuroscience, 2009, Petzold GC, Hagiwara A, and Murthy VN)。

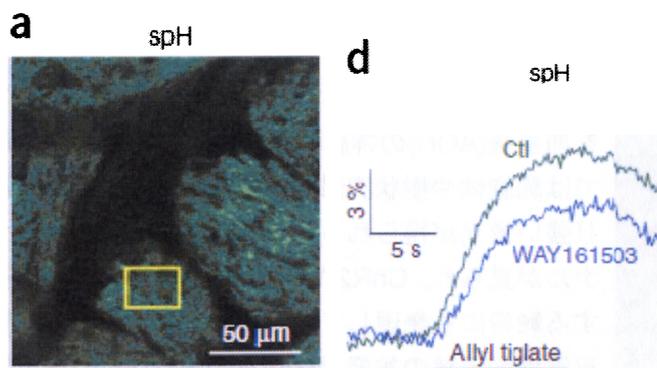


Fig. 1 (a) *SynaptopHluorin* を発現し、緑色の蛍光を発する糸球体。黄色の枠線で示した領域で蛍光強度の測定を行った。(d) *Allyl tiglate* と呼ばれるにおい物質をマウスにかがせると、嗅細胞が活性化し、シナプス伝達が起こる。その際シナプス前終末からの開口放出に応じて蛍光強度が増加する。*WAY161503* というセロトニン受容体の作動薬を添加しておくと、蛍光強度の増強が抑制された。

2. Optogenetics を用いた嗅皮質内局所回路の解析

記憶、学習といった機能を持つ脳は、形態学的にまた機能的に多くの小領域に分類することができます。以前は、これら小領域内の神経細胞間の結合やその機能が調べられてきました。しかし近年、脳の様々な機能は小領域内における情報処理だけでなく、その情報が小領域間を伝達されることの重要性に着目されるようになり、特に光と遺伝学を融合した光遺伝学 (Optogenetics) の登場によって神経回路網の解析へと発展してきました。

従来の神経科学では電氣的な刺激を与えることで、そのシナプス応答を記録してきましたが、様々な神経回路が混在する場所では、特定の回路のみを刺激することができませんでした。Optogenetics を応用させた方法では、特定の神経細胞に光活性化イオンチャネル(チャンネルロドプシン 2: ChR2, ハロロドプシン: NpHR)を発現させ、光刺激によって特定の回路のみを活性(または抑制)させることが可能です。そこで、この方法を用い嗅覚神経系の局所回路の生理学的な解析を行いました。

梨状皮質は脳の下部に位置する嗅皮質の一部で、形態学的な解析から、嗅球僧帽細胞の直接入力と嗅皮質内の小領域を結ぶ連合繊維 (Fig.2) の2種類の入力をうけることがわかっています。特に連合繊維は、匂いに関する記憶や学習に重要な役割を担っていることが推測されていたものの、その詳細は不明でした。そこで、梨状皮質と、梨状皮質と嗅球の間に位置する前嗅核に着目し、この2領域を結ぶ連合繊維の局所回路を生理学的に解析することとしました。ウイルスベクターの注入によって、領域特異的に ChR2 を発現させ、梨状皮質へのシナプス入力 (Feedforward projection)、または前嗅核への入力 (Feedback projection)をそれぞれ記録し、比較しました (Fig. 3)。その結果、より高次の脳領域である梨状皮質へ投射する Feedforward projection は Feedback projection に比べシナプスの可塑性が高いことを見出しました。以上の結果から、匂いの情報は連合繊維によって各領域間で共有されるが、特により高次の領域に行く際に、シナプスの可塑性による記憶、学習が起こることを示唆しました。(Journal of Neuroscience 投稿準備中)。

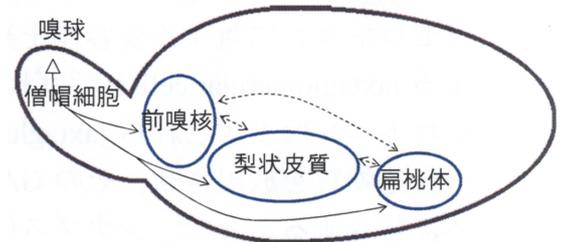


Fig.2 嗅覚神経系: 嗅皮質(前嗅核、梨状皮質、扁桃体など)は嗅球からの投射(実線)を受け、さらに嗅皮質内の各領域は連合繊維(破線)によって連絡合っている。

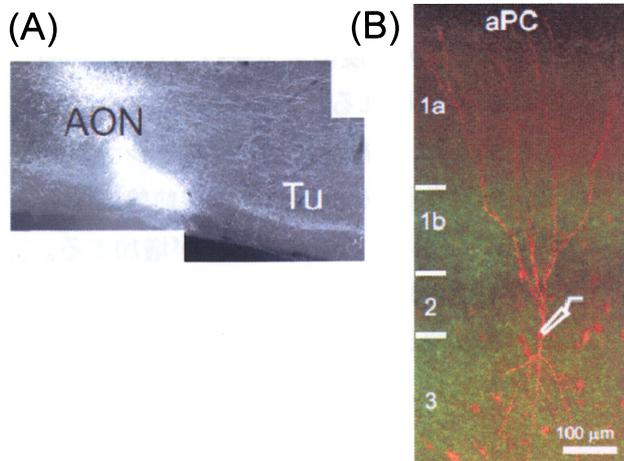


Fig.3 (A)ウイルスベクターの注入により ChR2-YFP を前嗅核(AON)の神経細胞に発現させた。注入部位では細胞体や樹状突起に発現する ChR2-YFP により強い蛍光が得られる。周辺には細い繊維状のシグナルが見られ、ChR2-YFP が他の嗅皮質領域に投射する軸索にも発現していることがわかる。(B) 梨状皮質は前嗅核の神経細胞からの投射(緑色)を主に第1b-3層で受ける。記録は第2層に位置する錐体細胞からパッチクランプ法で行った(記録後バイオサイチンによって赤色に染色)。

平成 18 年度 海外留学補助金による留學生活の報告

山梨大学医学部 生化学講座第一教室 萩原 明



研究室の窓から中庭を望む

ボストンでは、短いながらも快適な夏が終わると、長く寒い冬を迎えます。その冬がやってくる前にはとても短い秋があり、写真のように木々が赤く紅葉します。少し見にくいのですが、所属していた Molecular and Cellular Biology の正面玄関にはサイの像が置かれており、またビルの外壁には様々な動物の絵が描かれています。



Murthy 研の皆と最後の記念撮影

ボストンを去る前日に研究室にあいさつに行った時に撮ったものです。左端に座っているのがボスの Venkatesh Murthy 教授です。日本人の癖で写真を撮るときはよくピースサインをしていたら、ほかの国々の人によく「日本人っぽい」といわれていました。そのため、最後の記念撮影では皆と一緒にピースサインをしてくれました。



Murthy 研からの記念品

3 年半の間お世話になった研究室のみなから、送別会の時にもらった記念品です。アミノ酸コードを利用して、「AKARI」という名前をアミノ酸配列のネックレスにしたものを作ってもらいました。