

論文の内容の要旨

論文題目 **Odor-Induced Persistent Activity of Mitral Cells Mediated by mGluR1
in the Mouse Olfactory Bulb**

和訳 マウス嗅球僧帽細胞の代謝型グルタミン酸受容体 1 型を介した匂い誘
導性持続的ニューロン活動

指導教員 森 憲作 教授

東京大学大学院医学系研究科
平成 16 年 4 月進学
医学博士課程
機能生物学専攻

氏名 松本 英之

感覚系一般の性質として、外界からの物理的・化学的な感覚入力が無くなった後もその感覚が持続することが知られる。この感覚の一時的な持続は、動物がその環境を適切に認識し、行動するために重要な役割を担う。嗅覚において、匂いの感覚や匂いにより誘導される情動・行動反応は持続的な性質を持つ。例えばスカンク臭や腐敗物の匂い、また香水の匂いは、暫くの間鼻に残って離れないという持続的な知覚を我々に与える。げっ歯類においては、例えば天敵の匂いといった危険信号は長時間持続する忌避行動反応を引き起こす。このように嗅覚系には、短時間の匂い情報を長時間持続する知覚・情動・行動反応へと変換する神経機構が存在すると考えられる。しかし、哺乳類嗅覚系において、この変換がどのような神経機構によって担われているのか、未だ全く分かっていない。

哺乳類中枢嗅覚系の一次野である嗅球の投射ニューロン（僧帽・房飾細胞）は、短時間の匂い刺激に対して数十秒間持続するスパイク発火活動（Persistent discharges; PD）を示すことが

知られる。線虫では嗅覚刺激後に誘発される中枢介在ニューロンの持続的神経活動が、長時間持続する行動反応変化に関連することが報告されている。従って、僧帽・房飾細胞の PD は、短時間の匂い信号を長時間持続する反応に変換する哺乳類中枢嗅覚系の神経機構に関与する可能性が示唆される。そこで筆者は、僧帽・房飾細胞の PD の神経機構を明らかにするため、ウレタン麻酔下マウス嗅球背側部より僧帽・房飾細胞の細胞外単一ユニット記録を行い、直鎖アルデヒド・アミン類の匂いに対して誘発される PD について、体系的な解析を行った。

僧帽・房飾細胞が PD を生み出すメカニズムとして、次の二つの可能性が挙げられる。第一の可能性は、嗅上皮にある嗅細胞が匂い刺激後も長時間活性化し続けることにより、その情報の受け手である僧帽・房飾細胞が絶えず興奮性入力を受け取り、その結果 PD が誘発される可能性である。第二の可能性は、嗅球内神経回路がアクティブに匂い信号を維持することで PD が形成される可能性である。筆者は第二の可能性があるかどうかに着目し、以下の仮説を立てて解析を行った。即ち、もし PD のうち匂い刺激後に観察されるスパイク発火活動（Persistent afterdischarges; PAD）が嗅細胞からの持続的な興奮性入力だけで引き起こされるならば、PAD は匂い刺激中のスパイク発火活動（Immediate spike response; ISR）の単純な継続として表現されることが考えられる。この場合、PAD の応答強度・持続時間・匂い分子特異性は、ISR の応答強度・匂い分子特異性と密接に関連すると予想される。そこで、まず PAD と ISR の匂い分子特異性について解析した。解析を行った 22 細胞中、PAD と ISR の匂い分子特異性が一致しない僧帽・房飾細胞は約 45%（10 細胞）存在することが明らかになった。従って少なくともこの 45% の僧帽・房飾細胞では、PAD は ISR の単純な継続だけでは表現されない事が示唆される。更に、匂い分子刺激中のスパイク発火頻度よりも刺激後のスパイク発火頻度の方が有意に高くなっている細胞が約 40% 存在することが判明した（9/24 細胞）。この結果もまた、PAD が ISR の単純な継続だけでは表現されないことを示唆している。最後に、刺激匂い分子濃度を log-scale で振り分け、それぞれの濃度の匂い分子刺激に対する匂い応答を調べた実験においても、PAD が ISR の単純な延長だけで生み出されるのではないことを示す細胞が存在した（n = 3）。

以上の実験結果より、僧帽・房飾細胞の PD には中枢嗅覚系の神経回路が匂い信号をアクテ

mGluR1 は脳の様々な領域で発現している。そのため、mGluR1 遺伝子欠損型マウスで観察された PD の変化は、例えば嗅球へ直接投射する嗅皮質の神経細胞で mGluR1 の発現が無くなったことによる表現型である可能性も考えられる。そこで筆者は、嗅球に発現する mGluR1 が PD に関与することを確認するため、野生型マウス嗅球上に mGluR1 選択的阻害剤 (LY367385) を局所投与し、この嗅球から記録された僧帽・房飾細胞の匂い応答の持続時間について、コントロール群と比較した。その結果、嗅球に発現する mGluR1 を阻害するだけで僧帽・房飾細胞の匂い応答の持続時間は有意に短くなることが分かった (図 2)。以上の結果より、僧帽・房飾細胞の主樹状突起に発現する mGluR1 が PD の発現に関与することが強く示唆された。

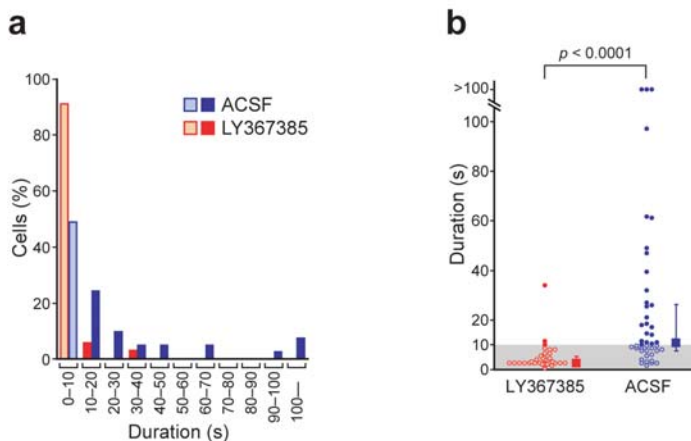


図 2 mGluR1 選択的阻害剤 (LY367385) を局所投与した嗅球より記録した僧帽・房飾細胞 (実験群) の匂い応答の持続時間は、ACSF 群 (対照群) と比較して有意に短い。(a) 10 秒以上持続する匂い応答を示す細胞数は、対照群 (青色; 24/44 細胞) と比較して実験群 (赤色; 3/34 細胞) では明らかに減少している。(b) 実験群で観察された匂い応答の持続時間 (赤丸) は、対照群 (青丸) と比較して有意に短い ($p < 0.0001$ with two-tailed Mann-Whitney U test)。

今回の研究成果より、筆者は僧帽・房飾細胞の PD の発現に関する以下の嗅球内神経機構モデルを予想している (図 3)。特定の、高濃度の匂い分子刺激により嗅細胞軸索終末からグルタミン酸が多量に放出されると、僧帽・房飾細胞の主樹状突起が強く活性化されて大量のグルタミン酸が糸球内部に放出される。このグルタミン酸により僧帽・房飾細胞の主樹状突起に強く発現している mGluR1 が活性化されて数秒持続する long-lasting EPSP が誘導される。Long-lasting EPSP により僧帽・房飾細胞の主樹状突起から更なるグルタミン酸の放出と、それに引き続く mGluR1 の活性化が促進される。この主樹状突起からのグルタミン酸放出と mGluR1 の活性化の興奮性フィードバック作用により、long-lasting EPSP が重畳し、最終的に数十秒間持続する PD が誘発されることが考えられる。

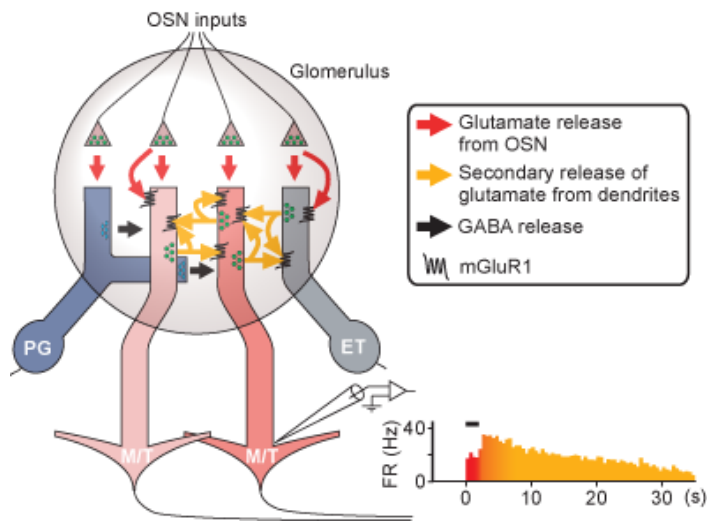


図3 僧帽・房飾細胞のPDの神経機構のモデル。嗅細胞軸索終末から強い興奮性入力が入ると、僧帽・房飾細胞はAMPA・NMDA受容体を介した短時間のfast EPSP（数ミリ秒～数十ミリ秒）の他に、主樹状突起からのグルタミン酸放出によって活性化されるmGluR1を介したlong-lasting EPSP（～数秒）を誘発する。主樹状突起からのグルタミン酸放出とmGluR1活性化の興奮性フィードバック作用により、long-lasting EPSPが重畳し、数十秒間持続するPDが誘発される。

哺乳類嗅球の投射ニューロンにおいて短時間の嗅覚入力を長時間持続するニューロン活動に変換する神経機構は、我々が感じられる持続した匂い知覚や、匂いにより誘導される長時間の情動・行動反応を生み出すメカニズムの一端を構成していると想像される。