

ニオイ(嗅覚)情報処理ラボ (Olfactory Information Processing Lab.)

研究項目：梨状皮質と大脳辺縁系におけるニオイ識別機構の研究

研究期間：平成10年度～14年度

1. 当該研究の背景

近年、分子生物学的解析手段の導入により、嗅覚受容細胞におけるニオイ刺激の受容メカニズムに関する研究が大きく進展し、新たな知見が次々に得られている。それに比べ、末梢感覚器の刺激受容に引き続く中枢系の脳内情報処理、識別機構の研究は非常に立ち遅れている。さて、工学分野では種々のニオイセンサーの開発が進められている。しかしその多くは末梢感覚受容機構の工学的模倣に主眼がおかれていて、それに接続されるべき、中枢系の識別機構に匹敵した工学システムの開発は不十分である。このような状況は冒頭に記した動物におけるニオイ識別脳内機構の解明の遅れに大きな原因があるものと考えられる。本研究はこの現状を打ち破るべく、ニオイ識別のための脳内機構の実体と動作原理を明らかにすることを目指している。

研究対象としてまず、齧歯類(ラット、モルモットなど)を選定した。視覚系の能力が低い彼らにとって嗅覚情報は外界とのコミュニケーションにおいて極めて重要であり、その処理系が発達している。実際、嗅覚情報処理に関わる脳構造が脳全体の体積に占める割合も非常に大きい。又、ニオイ刺激受容の分子メカニズムの解明研究が非常に進んでいて、その知見が研究展開に多いに役立つと判断された。生理、解剖学的研究手法、脳活動イメージング法等の適用が容易であることも齧歯類を選定した大きな理由である。

嗅上皮細胞で化学受容された嗅刺激は嗅上皮—嗅球系で1次処理され、その後、情報は梨状皮質を介して嗅内野、海馬などから成る大脳辺縁系に送られ処理される。本研究では高次嗅情報処理機構のうちでも、特に梨状皮質における情報表現と、その後の大脳辺縁系における情報処理に注目して研究を進めることとした。その理由は以下のとおりである。梨状皮質には嗅上皮—嗅球系からの出力が投射される。同皮質はわずか

3層の細胞層から成り、脳底に非常に大きな空間を占め分布する。従ってニオイの種類や濃度などの情報が梨状皮質上に神経活動の2次元展開パターンとして表現される可能性が高く、イメージング手法の適用により、それを計測、解析できる可能性が考えられる。梨状皮質からの情報は嗅内野を介して海馬に送られる。これら大脳辺縁系は過去に受容したニオイの記憶を参照しながら、新たに受容したニオイの識別を行っている可能性が高い。

2. これまでの研究経過と現状

本研究で取り扱うニオイ情報処理機構、すなわち梨状皮質と大脳辺縁系はともに脳底とその近傍に分布している。従って、そのままでは電気生理学的手法、あるいは光学的イメージング手法のアプローチが極めて困難である。そこで脳全体を *in vitro* 実験系で取り扱うことのできるモルモットの単離脳標本を研究に用いることにした。この標本は脳摘出後、速やかに椎骨動脈にカニューレを挿入し、人工血液で脳還流することにより脳活性を保ったまま *in vitro* に維持するというものである。同標本は測定チャンバー内で、脳の上下を逆転して固定できるので、脳底部への種々の計測法のアプローチが容易に行うことができる利点をもつ。

本研究ではまず、この標本で膜電位感受性色素を用いた光学的測定法により脳活動の時間・空間的分布を記録するための技術開発を行い、それに成功した。しかし従来の方法で作成したモルモット単離脳では脳摘出時に全ての感覚入力を切断してしまうので、本研究でめざすニオイ刺激により誘発される脳活動記録が不可能である。そこで次にニオイ刺激を受容する嗅上皮を保存したままの単離脳標本の作成に挑んだ。その結果、嗅感覚入力を保持した単離脳標本作成に成功し、ニオイ刺激を正確に制御しながら脳活動計測が容易に行える画期的な *in vitro* 実験系が完成した。すなわ

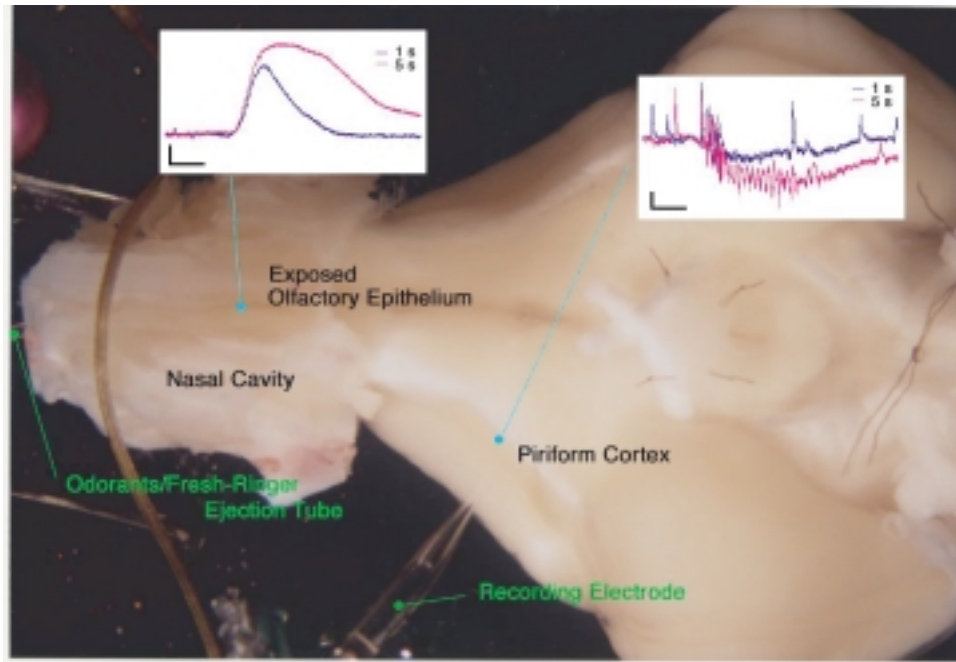


図1 嗅上皮付き単離脳試料

ち、本試料調整の成功によって *in vitro* の単離脳で嗅覚系自然刺激に対する中枢の情報処理機構を研究することが可能になった。

図1に、嗅上皮付き単離脳試料の写真を示す。このような試料では、酸素を吹き込んだ人工血液を供給し続けることにより、12時間以上は良好な脳活動を記録できる。しかし、嗅上皮の血流系に人工血液を供給することは困難であるため、酸素を十分に溶け込ませたリンゲル液を鼻先側から鼻腔に挿入したチューブを介して嗅上皮表面に供給し、嗅上皮の活性を維持させることを試みた。この試みは成功し、嗅上皮の機能を数時間以上にわたり維持し、二オイ刺激種に依存して異なる振幅を示す陰性の受容器電位を記録できるようになった(図2)。できるだけ広い面積の嗅上皮の応答が嗅球に送られるようにするために、鼻腔を形成する骨は腹側最後部の一部を切除する程度とし、この開口部から記録電極を挿入して嗅上皮に接触させ、受容器電位を測定した。

図3には嗅上皮(EOG)から記録された受容器電位(緑、黄色のトレース)と梨状皮質から記録された伝播性電位(細胞外誘導電位:赤、青のトレース)を同時表示した(注:この図における受容器電位は、二オイ刺激直後に発生する小さな陰性電位[例えば緑のトレースで応答初期の小さな下向きの電位のふれ]であり、それに

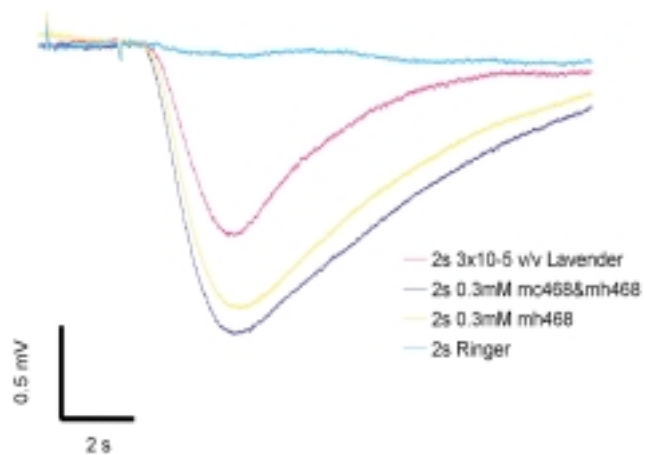


図2 各種の二オイ刺激に対する嗅上皮の受容器電位

続く大きな陽性電位は嗅粘液の分泌を反映した電位である)。これから、開発した標本では嗅上皮の二オイ受容機能が維持され、しかも大脳にその情報が送られていることがわかる。二オイ刺激(図では[0]の期間)により嗅上皮に受容器電位が誘発されると、それからわずかに遅れて梨状皮質には振動性電位の重畳した緩やかな陰性電位応答が見れる(注:梨状皮質では、無刺激時にもランダムなタイミングで生じる離散的な自発活動が観察される)。その比較的初期(図3では[1]で示した期間、およそ1秒間)には3-30Hzの振動性電位が必ず現れる。刺激時間を1秒間から5秒間と長くしても

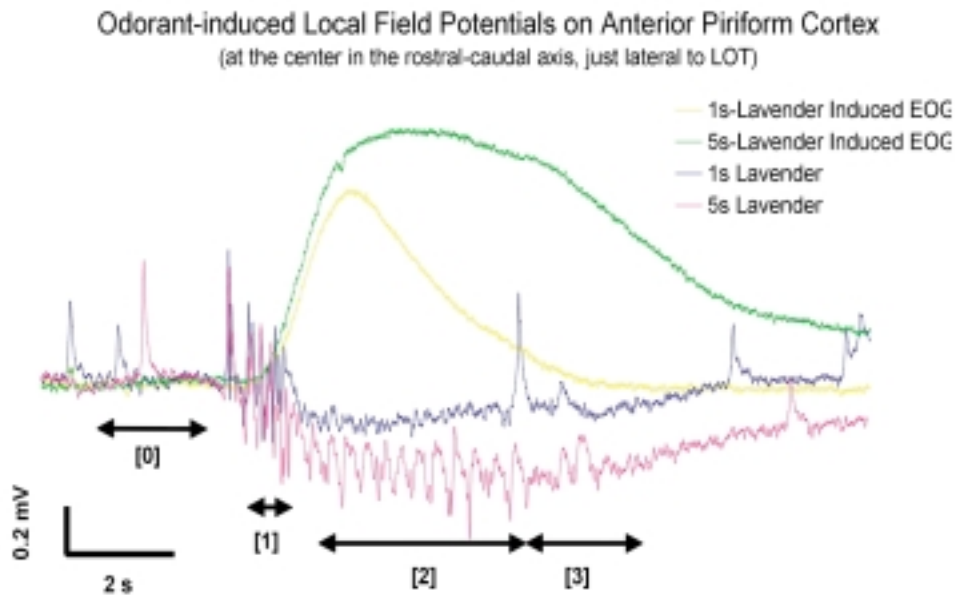


図3 嗅上皮の受容器電位(黄、緑のトレース)と梨状皮質における電位応答(青、赤のトレース)の同時記録

(緩慢な陰性電位応答の持続時間と振幅は増大するが) β -30Hzの振動性電位の持続時間には大きな変化が見られなかった。我々がニオイをかぎわける時、ニオイ刺激を受ける時間によらず、その種類が特定できることを考えると、この振動性電位の周波数パターンなどにその情報がコードされている可能性が考えられ、現在、精力的にその実験と解析を進めているところである。

3. 今後の研究展開

本研究で開発した嗅上皮付き単離脳試料はニオイ感覚器の応答と脳底部に分布するニオイ情報処理に関する脳構造のふるまいを種々の手法で同時観測できる、きわめて優れた実験系であり、嗅覚情報の中枢における処理機構を明らかにする上で強力な武器になり得る。ニオイの脳内情報表現は電気生理学的手法により求めた細胞(集団)の発火パターンとして、又、イメージング手法により神経活動の時間・空間パターンとして捉えられる可能性が高く、その記録と解析が今後の大きな課題である。そのような取り組みから、ニオイの種差や濃度差が空間的広がりをもった神経細胞群の活動にどのようにコードされているのかを明らかにすることが重要である。

参考文献

- 1) Marco de Curtis, I. Takashima and T. Iijima : Optical recording of cortical activity after *in vitro* perfusion of cerebral arteries with a voltage-sensitive dye, Brain Research 837, 314-319 (1999)
- 2) T.sato, I. Takashima, R. Kajiwara, K. Tsukada and T. Iijima : Recordings of odor-induced activities in olfactory cortex in *in vitro* preparation of isolated whole brain with olfactory epithelium, Soc. Neuroscience Abst., 25, 389 (1999)
- 3) T.sato, I. Takashima, R. Kajiwara, K. Tsukada and T. Iijima : *In vitro* preparation of isolated whole brain with olfactory epithelium for measurement of odorant-induced activity in piriform cortex, Neurosci.Res.Suppl. 23, S237 (1999)

当該研究担当者等

ラボ構成員(総数11名)

職員(5名) 飯島敏夫*、高島一郎、秋山修二、梶原利一(超分子部)、佐藤孝明(大阪LERC)

職員以外(6名) 高橋俊光、肖瑞亭、村野紀代(科学技術振興事業団研究員)、塚田薫、見村夕香(特別技術補助職員)、村松朱愛

*ラボリーダー