

嗅覚神経回路の可塑性における成体脳新生ニューロンが果たす役割の解明

Functional significance of adult neurogenesis in the plasticity of the olfactory neural circuit

京都大学	今吉 格
派遣期間	2013年2月15日～2014年9月15日
研究機関	Section of Neurobiology and Department of Neurosciences, University of California, San Diego, CA 92093, United States
研究指導者	Prof. Takaki Komiyama

The olfactory bulb is one of the two major loci in the mammalian brain that incorporate newly-born neurons to the circuitry throughout adulthood. However, the role of adult neurogenesis in olfactory processing is poorly understood. I have tested the role of olfactory bulb adult-born neurons. More specifically, I have studied response properties of adult-born neurons and the effect of functional manipulation of adult-born neurons on response properties of olfactory bulb principal neurons. It is expected that our comprehensive approach with cutting-edge technology will reveal the significance of adult neurogenesis, a remarkable form of brain plasticity through the further in-depth analysis.

研究目的

マウス生後脳・成体脳で起きているニューロン新生の機能的意義を、神経回路レベルで明らかにするために、二光子顕微鏡を用いた覚醒マウスの Ca²⁺イメージング法により、嗅球のニューロン新生を解析する。新生ニューロンと既存のニューロンの匂い応答性・可塑性の差異を明らかにするとともに、新生ニューロンを除去したマウスを用いて、嗅球の主要な出力ニューロンである Mitral cell(僧帽細胞)の可塑的变化について解析を行う。一日当たり数千個の新生ニューロンがマウス嗅球に供給されている。そのため、マウス嗅球は新生ニューロンの特異的な性質や、新生ニューロンが神経回路の可塑性に与える影響を解析するのに優れたモデル系である。また、Komiyama 博士の研究室では覚醒状態のマウスを用いて、嗅球のニューロンの神経活動の長期イメージングに成功している。嗅球のニューロンの神経活動及び可塑的な変化は、麻酔下にあるマウスとは異なっている事を見い出されており、覚醒状態のマウスを用いて実験する事が重要であるとともに、覚醒状

態のマウスを用いる事で、匂い学習課題遂行中の嗅球のニューロンの神経活動をリアルタイムで記録する事が可能である。哺乳類脳神経系の可塑性の更なる理解と、再生医療実現のための基盤的知識の充実に繋げる事を目指す。

研究経過

1: 新生ニューロンと既存のニューロンの匂い応答性・可塑性の差異の解析

これまで申請者が開発してきた遺伝学技術を用いて、Ca²⁺応答性プローブである GCaMP を新生ニューロンに発現させて、二光子顕微鏡を用いた覚醒マウスの長期イメージングを行った。並行して、GCaMP を発現する AAV(アデノ随伴ウイルス)ベクターを新生ニューロンの細胞移動経路である RMS(吻側移動経路)に感染させ、嗅球に細胞移動した新生ニューロンを観察した。新生ニューロンのほとんどは顆粒細胞という抑制性ニューロンに分化して、既存の嗅球の神経回路に組み込まれる事が知られている。新生顆粒細胞と、発生期に産生された既

存の顆粒細胞に、それぞれ GCaMP を特異的に発現させて、様々な匂い物質に対する応答性を比較することを試みた。ウイルスベクターを新生児期のマウスに感染させる事で、発生期に産生された既存の顆粒細胞に GCaMP を発現させる事ができる。その後、嗅球の背側領域に、二光子観察用の window(観察窓)を作成し、二光子観察を行った。今後、新生ニューロンと既存のニューロンの間で、匂い応答に差異がみられるか、もしくは、匂い学習にともなう神経活動の変化に差異がみられるかどうかについて、詳細な解析を行う予定である。-----

2: ニューロン新生が嗅球の匂い情報の出力に与える役割の解析-----

これまでの本研究者の行動解析結果において、新生ニューロンを除去したマウスでは、柔軟な匂い学習の障害が観察されている事を考えると、新生顆粒細胞は嗅球の主要な出力ニューロンである Mitral cell の可塑性に影響を与えている可能性が考えられる。顆粒細胞は側方抑制というメカニズムを通じて、Mitral cell の神経活動に影響を与えているが、新生顆粒細胞が Mitral cell にどのような影響を与えるのかは全く明らかになっていない。GCaMP を Mitral cell に発現させて、二光子顕微鏡を用いた Ca²⁺イメージングを行う事で、Mitral cell 集団の匂い物質に対する応答性を観察する事が可能になる。繰り返し同一の匂い物質を嗅がせる事や、良く似た匂い物質の識別学習課題を試行させている間に、Mitral cell 集団の神経活動パターンに変化が生じる事が予想される。--

そのために、まずは二光子顕微鏡下で頭部を固定されたマウスに匂いと報酬(水)の関連学習をおこなわせる実験系を利用して、ニューロン新生が阻害されたマウスにおいて、行動学的解析を行った。その結果、匂い物質のカテゴリー学習において、ニューロン新生マウスはコントロールマウスに比べて課題遂行率が低い事を見出した。次に、ニューロン新生を阻害したマウスの嗅球の背側領域に、二光子観察用の window を作成し、かつ、AAV を用いて Mitral cell 特異的に GCaMP の発現を誘導し、二光子観察を行った。今後、これらのマウスが匂い物質のカテゴリー学習を行っている最中の Mitral cell の神経活動とその変化を詳細に解析し、Mitral cell 集団の神経活動パターンがどのように推移しているのかについて、解析を行う必要がある。-----

考察

申請者はこれまで、生後脳・成体脳に存在する神経幹細胞を特異的に遺伝子操作する事が可能な遺伝子改変マウスを、世界に先駆けて開発する事に成功した(Imayoshi et al., Genesis 2006; Imayoshi et al., Frontiers in Neuroscience 2011)。これらの遺伝学ツールを用いて、成体脳における新生ニューロンを選択的に標識・除去する事に成功し、成体脳ニューロン新生の機能的意義の一端を解明した(Imayoshi et al., Nature Neurosci. 2008; Imayoshi et al., J Neurosci. 2014)。

しかし、これまでの申請者の研究は、行動学的解析を通じてニューロン新生の意義を明らかにしてきたものであり、ニューロン新生の生理的意義の全容解明には、神経回路レベルでの新生ニューロンの機能解析も必須である。そのためには、光遺伝学ツールや多光子顕微鏡など最先端の実験技術を駆使し、神経回路レベルでのニューロン新生の機能的意義について理解を深める事が必要である。今回、二光子顕微鏡を用いて、嗅球における新生ニューロンの機能的特異性や、ニューロン新生が嗅覚神経回路の可塑性を発現するメカニズムについて解析を行うための、実験手法を確立する事ができた。今後、より詳細な解析を行う事で、嗅球、そして海馬において、神経回路を構成するニューロンが入れ替るという、驚くべき神経回路の可塑性の機能的意義について、根本的な理解につながるものと考えられる。また、今後、iPS 細胞等を利用した神経細胞移植による再生医療実現のためには、移植された外因性のニューロンの既存の神経回路への組込みを制御する事が重要なプロセスになるが、生後脳・成体脳ニューロン新生の研究から得られる知見は、このような将来の再生医療の重要な戦略基盤になると思われる。-----

参考文献

Imayoshi, I., Ohtsuka, T., Metzger, D., Chambon, P. and Kageyama R. (2006) Temporal regulation of Cre recombinase activity in neural stem cells. Genesis 44: 233-238.

Imayoshi, I., Sakamoto, S. and *Kageyama, R. (2011) Genetic methods identify and manipulate newborn neurons in the adult brain. Frontiers in Neuroscience May 2;15:64.

Imayoshi, I., Sakamoto, M., Ohtsuka, T., Takao, K., Miyakawa, T., Yamaguchi, M., Mori, K., Ikeda, T., Itohara, S. and Kageyama, R. (2008) Roles of continuous neurogenesis in the structural and functional integrity of the adult forebrain. Nature Neuroscience 11: 1153-1161.

7. -----

8. -----

Sakamoto, M., Ieki, N., Miyoshi, G., Mochimaru, D., Miyachi, H., Imura, T., Yamaguchi, M., Fishell, G., Mori, K., Kageyama, R. and *Imayoshi, I. (2014) Continuous postnatal neurogenesis contributes to formation of the olfactory bulb neural circuits and flexible olfactory associative learning. The Journal of Neuroscience 34: 5788-5799. -----
-----。

研究の発表

口頭発表

1. 特になし
2. -----

3. -----

4. -----

5. -----

6. -----

7. -----

8. -----

誌上発表

1. 特になし
2. -----

3. -----

4. -----

5. -----

6. -----

