

食における匂いの快・不快感を科学する —新生ニューロンの発達に与える影響—

坪井 昭夫

奈良県立医科大学医学部脳神経システム医科学 教授

緒 言

大脳皮質の視覚野や海馬の神経回路は、ニューロンがその活動に応じて樹状突起の発達やスパイン形成を行うことにより、より精密化されたものに成熟する。匂い分子を受容する嗅細胞の接続先である、嗅球の介在ニューロン（顆粒細胞と傍糸球細胞）は、胎生期のみならず成体期においても新生され続け、新たな神経回路を再構築している¹⁾(図1)。このことは、影山龍一郎博士のグループにより、嗅球ニューロンによる新たな神経回路の形成は、古い神経細胞と新生された神経細胞が置き換わることによるという知見から示された²⁾。

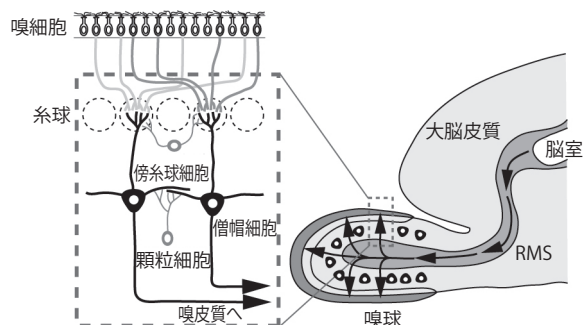


図1 マウス嗅覚神経回路の模式図

嗅球介在ニューロン（傍糸球細胞・顆粒細胞）は脳室周辺で産生され、rostral migratory stream (RMS) という経路を通過して嗅球へ移動し、新たな神経回路を形成する。

また、この成体における嗅球の神経回路形成は神経活動の影響を受けることも知られている。これは、森憲作博士のグループにより、片側の鼻孔を閉じて匂い刺激を遮断すると、閉じた側の嗅球では新生ニューロンの細胞死が促進されていることから示された³⁾。さらに、澤本和延博士のグループにより、新生ニューロンが嗅球に移動する際、SLITを分泌しながら、周囲のアストロサイトに働きかけ、高速移動する場を創出することが明らかにされた⁴⁾。しかしながら、嗅球介在ニューロンの神経活動依存的な回路形成機構については不明な点が多い。

そこで本研究では、嗅球介在ニューロンをモデルとして、レンチウイルスを用いた嗅神経活動依存的な遺伝子の機能解析を行うことにより、感覚入力依存的な神経回路の可塑性の分子機構を解明すると共に、“食における健康”というQOLの追及を目指した。

結 果

1. 匂いの快・不快な環境における新生ニューロンの解析

私共が対象にしている嗅球の介在ニューロンは、胎生期のみならず成体時においても、常に、神経新生や新たな神経回路が生じているというユニークな特徴を持っている。また生後、脳内の神経回路は、外界からの刺激に反応して適切な回路に修正されることが知られている。そこで本研究では、嗅覚系をモデルとして、快・不快な匂いの環境下における脳における新生ニューロンの動態を解析した。嗅覚系においては、特定の匂い分子は特定の神経細胞のみを活性化するので、刺激とそれに反応する神経細胞の対応が明確であり、従来の刺激 enriched な環境での実験に比べて、より精密な実験を行うことが可能である。

そこで私共は、GFP 遺伝子を搭載したレンチウイルスをマウス脳室に注入して、その2週間後に嗅球切片を解析した。その結果、GFP 遺伝子が新生された嗅球介在ニューロンにのみ取り込まれていたため、嗅球における新生ニューロンの動態を *in vivo* で解析する系を確立できた⁵⁾(図2)。さらに、私共の研究から、マウスの鼻孔を閉塞した場合、閉じた側の嗅球が縮退することが判明した⁵⁾(図3)。このことは、嗅球の介在ニューロンの産生や既存の嗅神経回路への新たな介在ニューロンの付加が、神経活動依存的であることを示唆している。

私共は次に、レンチウイルスを用いた *in vivo* での GFP 発現系を、快・不快な匂いの環境に暴露したマウスに適用して解析を進めている。具体的には、快適な匂いと不快な匂いを充満させたケージ内で、GFP レン

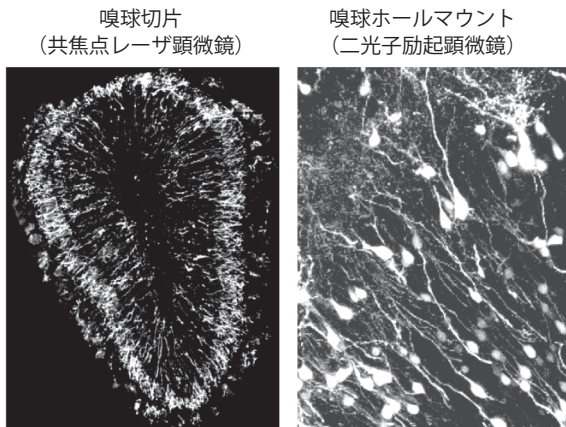


図2 GFP レンチウイルスを用いた新生嗅球介在ニューロンの可視化

GFP 遺伝子を搭載したレンチウイルスをマウスの脳室に注入することにより、嗅球における新生介在ニューロンの動態を可視化する系を確立した。

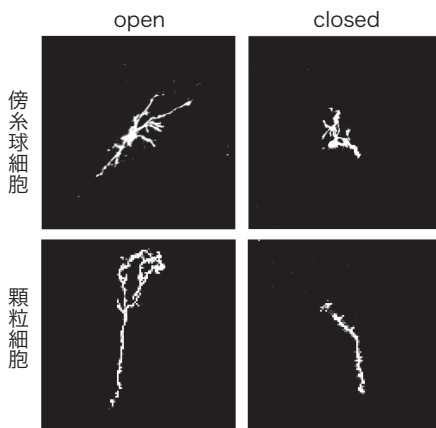


図3 嗅球介在ニューロンの神経活動依存的な形態変化

片鼻を閉じて神経活動を低下させた場合には、介在ニューロンの樹状突起の発達が阻害された。

チウイルスを注入したマウスを数日間飼育した。この場合、マウスにとって快適な匂いとは、餌の匂いや好んで長時間嗅ぎに来る匂いを意味し、不快な匂いとは腐敗臭、刺激臭や猫などの天敵臭といったマウスに忌避反応を誘起する匂いを意味する。私共がこれまでに、クローバの香りであるオイゲノールをマウスに嗅がせたところ、それを受容する OR-EG 細胞に対する糸球の大きさが顕著に変化していないことを見出した（未発表データ）。神経細胞の発達には、NGF (nerve growth factor) や BDNF (brain-derived neurotropic factor) などの神経成長因子や細胞骨格形成の制御因子が関与す

ることが知られている。そこで今後、神経細胞の発達に異常が見られた場合には、これらの遺伝子発現を解析することにより、神経細胞の発達段階の、どの段階で異常をきたしたのかを明らかにする予定である。

2. 匂いの快・不快な環境において活性化される神経回路の解析

これまでの研究により、快・不快の情動は、海馬や扁桃体などからなる大脳辺縁系によりもたらされると考えられている。この大脳辺縁系は、匂いの情報が直接入力される領域であり、快・不快な匂いの刺激により神経活動が活発に行われていると考えられる。本研究では、匂いにより誘起される快・不快の環境下で飼育したマウスに対して以下の実験を行った。快適な匂いまたは不快な匂いを充満させたケージで飼育したマウスを解剖して、*c-fos* や *zif268* (神経活動依存的に発現が誘導される遺伝子) が、脳内のどのニューロンで発現しているのかを、免疫組織染色法を用いて解析した。この際、脳内でも特に、快・不快の情動を司る扁桃体などの大脳辺縁系に焦点を絞って解析を行った。扁桃体は多数の神経核が集まった複雑な構造を呈しているが、快・不快の条件下で扁桃体のどの領域が特異的に活性化されるのかはまったく分かっていない。私共がこれまでに、クローバの香りであるオイゲノールをマウスに嗅がせたところ、扁桃体の基底外側核 (Baso-Lateral Amygdala nucleus: BLA) のニューロンが活性化されることが判明した（未発表データ）。このような実験を通して、食べ物の香りによる心地良さ（癒し）を感知する脳内の活動領域を、分子・細胞レベルで解析することが可能になると考えられる。

考 察

我々は、匂いの快適か不快かによって、それぞれ癒しやストレスを日常的に感じて生活している。この匂いの快・不快を感知するメカニズムを解明することは、“食における匂いの快感とは何かを科学する”うえで極めて重要である。私共は、五感の中でもとりわけ、“嗅覚”に着目して研究を行っている。本研究では、マウスの嗅覚系をモデルとして、匂いの快・不快な環境のもたらす新生ニューロンの発達の影響を検討すると共に、快・不快感を誘起する脳内の神経回路を解析した。夜行性であるマウスは、視覚が未発達の代わりに、嗅覚が高度に発達しており、複雑な神経回路を形成している。嗅覚は他

の感覚とは異なり、匂い情報が視床下部を経由せずに直接、情動を司る扁桃体や海馬といった大脳辺縁系へと伝わる。したがって、嗅覚はマウスやヒトにとって快・不快の情動と密接に係る感覚であると言える。また、マウスとヒトの脳では、その構造は大きく異なるように見えるが、神経領域の部位、並びに、異なる領域間の連結は、両者で多くの共通な部分を有することが知られている。したがって、本研究において、匂いの快・不快感に関与するマウスの神経回路が解明されれば、ヒトにおいて対応する領域の神経活動を調べることにより、ヒトで匂いの快・不快感を客観的に評価することが可能となり、“食における健康”という QOL の追及にも繋がると期待される。

謝 辞

本研究を遂行するに当たり、ご支援を賜りました公益財団法人三島海雲記念財団に厚くお礼を申し上げます。

成果発表

Yoshihara S, Takahashi H, Nishimura N, Naritsuka H, Shirao T, Hirai H, Yoshihara Y, Mori K, Stern PL and Tsuboi A : *J. Neurosci.* 32, 2217-2226 (2012) .

引用文献

- 1) Lledo PM, Merkle FT, Alvarez-Buylla A: Origin and function of olfactory bulb interneuron diversity. *Trends Neurosci.* 31, 392-400 (2008) .
- 2) Imayoshi I, Sakamoto M, Ohtsuka T, Takao K, Miyakawa T, Yamaguchi M, Mori K, Ikeda T, Itohara S, Kageyama R: Roles of continuous neurogenesis in the structural and functional integrity of the adult forebrain. *Nat. Neurosci.* 11, 1153-1161 (2008) .
- 3) Yamaguchi M, Mori K: Critical period for sensory experience-dependent survival of newly generated granule cells in the adult mouse olfactory bulb. *Proc Natl Acad Sci USA* 102, 9697-9702 (2005) .
- 4) Kaneko N, Marin O, Koike M, Hirota Y, Uchiyama Y, Wu JY, Lu Q, Tessier-Lavigne M, Alvarez-Buylla A, Okano H, Rubenstein JL, Sawamoto K: New neurons clear the path of astrocytic processes for their rapid migration in the adult brain. *Neuron* 67, 213-223 (2010) .
- 5) Yoshihara S, Takahashi H, Nishimura N, Naritsuka H, Shirao T, Hirai H, Yoshihara Y, Mori K, Stern PL and Tsuboi A: 5T4 glycoprotein regulates the sensory input-dependent development of a specific subtype of newborn interneurons in the mouse olfactory bulb. *J. Neurosci.* 32, 2217-2226 (2012) .