

氏 名 田 中 暢 明

学位（専攻分野） 博士(理学)

学 位 記 番 号 総研大甲第772号

学位授与の日付 平成16年3月24日

学位授与の要件 生命科学研究科 分子生物機構論専攻

学位規則第4条第1項該当

学 位 論 文 題 目 ショウジョウバエ嗅覚系神経回路の遺伝学的解析

論 文 審 査 委 員 主 査 教授 小林 悟
教授 上野 直人
教授 高田 慎治
助教授 伊藤 啓（東京大学）

論文内容の要旨

匂いは揮発性化合物の混合物である。動物は昆虫では触角、脊椎動物では嗅上皮にある嗅細胞で、周辺空気中に含まれる揮発性物質を検知し、その情報を脳に伝えてどの種類の物質がどのように混合しているかを計算することで、さまざまな匂い物質の混合物を単一の匂いとして認識する。近年、嗅細胞は発現する嗅覚受容体遺伝子の種類に応じて、嗅覚系 1 次中枢内の数十から数千ある糸球体から、1 ないし 2 個に選択的に投射することが、昆虫と脊椎動物で示された。言い換えると、1 次中枢内には嗅覚受容体遺伝子に対応した、匂い地図が形成されていることになる。しかし、1 次中枢の匂い地図構造の活動パターンを脳の上位中枢がどのように読みとり、匂いを割り出すのかはまだ完全には明らかにされていない。

そこで本研究では、1 次嗅覚中枢の情報が次のレベルの情報処理領域である 2 次嗅覚中枢にどのように伝わるのか、その神経回路を明らかにすることを試みた。そのためにショウジョウバエの GAL4 エンハンサートラップシステムを用いて、昆虫の嗅覚系 1 次中枢にあたる触角葉から、2 次中枢にあたるキノコ体と側角、さらにその他の従来未同定だった 2 次中枢に投射する神経細胞を標識し、それらの細胞が作る神経回路構造を解剖学的に明らかにした。

まず、1 次中枢の触角葉に樹状分枝をもち、そこから上位中枢へ投射する経路として、既知の 4 経路に加えて新たに 2 経路を発見した。この結果、従来知られていたキノコ体と側角以外に、前大脳の後側部、中央上部、上側部などの脳領域が 1 次中枢からの嗅覚情報を直接受け取ることが明らかになった。

ゴルジ染色法などをもちいた従来の研究では、既知の 4 経路は同定はされていたものの、異なる経路の間で個々の神経の投射様式にどのような違いがあるかなどは調べられていなかった。そこで、同定された 6 経路のうち、キノコ体に投射する 3 経路と、側角に投射する 4 経路について、それぞれの 2 次中枢内部で投射神経の軸索終末がどのように分布するかを調べた。

その結果、異なる経路を通してキノコ体や側角に投射する神経は、2 次中枢内部でそれぞれ異なる領域に分布するわけではなく、大きな重なりを持っていた。また、1 次中枢からの投射神経には、単一の糸球体に樹状分枝を伸ばして情報を集める単一糸球体型と、多数の糸球体に樹状分枝を伸ばして情報を集める多糸球体型があるが、それぞれの経路にある単一糸球体型と多糸球体型の神経の終末は、2 次中枢内においては完全には分離しないものの、非常に異なる分布パターンを示した。以上のように、1 次中枢からいったん異なる経路に伝えられた刺激情報は 2 次中枢内の同じ領域に再び収斂するが、同じ経路に伝えられた単一糸球体型と多糸球体型投射神経の刺激情報は、収斂せずに 2 次中枢内の異なる領域に伝えられているという原則が判明した。

また、キノコ体の中に「単一糸球体型投射を受ける部分」と「多糸球体型投射を受ける部分」が別れて存在するのに対し、側角では異なる経路で伝えられた単一糸球体型と多糸球体型の投射神経の終末はそれぞれ合計すると側角全体をカバーしていた。従って側角ではキノコ体と異なり、「単一糸球体型投射を受ける部分」と「多糸球体型投射を受ける部分」が、側角全体に重複して存在していた。

単一糸球体型投射神経は個々の糸球体の活動パターンを特異的に 2 次中枢に伝えることができる唯一の情報経路である。そこで、個々の糸球体の情報が 2 次中枢のどこへ伝えられるのかを知るため、投射神経の中の過半を占め、キノコ体と側角の 2 つの主要 2 次中枢の両方に投射する投射神経 (intra-antenna-cerebral tract, iACT 投射神経) に関して、2 次中枢間における投射様式の相違を調べた。

触角葉に存在する 43 個の糸球体のうち 9 個について詳しく調べたところ、これらは側角では、上部後方、下部前方、下部後方の 3 つの領域に収斂して投射する 3 つのグループに分類できることが分かった。同様にキノコ体では、中央部、中間部、辺縁部の同心円状の 3 層の領域に収斂して投射していた。側角の同じ領域に収斂投射する糸球体は、キノコ体でも同じ領域に収斂投射する。従って、投射神経の投射様式には 2 つの主要 2

次中枢の間に強い相関があり、糸球体ごとの軸索終末の分配は共通であった。そして 1 次中枢の糸球体は、iACT 投射神経が側角とキノコ体のどの領域に投射するかによって、少なくとも 3 つのグループに分けられることが明らかになった。

このように 2 次中枢では、異なる糸球体グループの活動情報が 2 次中枢内の異なる領域に分離して伝えられている。そこで次に、この情報を 2 次中枢側の神経がどのように受け取るかを調べた。そのために、2 次中枢のキノコ体神経細胞と側角神経細胞が、同定された 3 つの領域に対してどのように神経線維を伸ばしているかを解析した。

側角神経細胞は従来ほとんど調べられていなかったもので、今回 GAL4 エンハンサートラップシステムのスクリーニングによって、始めてその投射形態を明らかにした。その結果、側角神経は、1 次中枢からの投射神経が規定する側角内の各領域に限局した投射が観察された。そして、側角内の異なる領域に投射する側角神経細胞は、それぞれ異なる脳内領域と側角とを連絡していた。つまり 1 次中枢の異なる糸球体グループから 2 次中枢の異なる領域に送られてきた嗅覚情報は、混合されずに分離したまま脳の別の領域へ送られて処理されるという可能性が強く示唆された。

一方キノコ体神経細胞には、キノコ体の異なる出力部位に投射する 4 つのグループが分類可能であるが、それぞれが 1 次中枢からの投射神経が規定する 3 つの同心円状の領域をまたがって、全体に投射していた。単一神経細胞レベルで解析しても、1 領域に限局した投射をする細胞から、3 領域に投射する細胞までが入り混じっていた。これらの多様な細胞集団が、同じ出力領域に軸索終末を収斂して形成している。すなわちキノコ体では、1 次中枢の異なる糸球体グループから 2 次中枢の異なる領域に送られてきた嗅覚情報が、混合されて再び収斂するような回路構造があることが明らかになった。

キノコ体は嗅覚連合学習に必須であるが、学習や経験に依存しない嗅覚刺激応答ではキノコ体は不要であり、側角の機能だけで十分だと分かっている。今回の研究で、側角には領域ごとに限局した回路構造が存在するのに対し、キノコ体には各糸球体由来の刺激情報を統合する回路構造があるという大きな違いがあることが分かった。2 つの主要 2 次中枢が担う機能の違いには、このような情報伝達様式の違いが関係している可能性が示唆された。

論文の審査結果の要旨

動物は昆虫では触角、脊椎動物では嗅上皮にある嗅細胞で周辺空気中に含まれる揮発性物質を検知し、どの物質がどのように混合しているかを計算することで匂いを認知する。近年昆虫でも脊椎動物でも、嗅細胞は発現する嗅覚受容体の種類に応じて嗅覚 1 次中枢内の特定の糸球体領域に選択的に投射することが示された。従って 1 次中枢内には、嗅覚受容体に対応した匂い地図が存在する。しかしこの匂い地図に対応した神経活動パターンを脳の上位中枢がどのように読みとり、匂いを割り出すのかは、まだ明らかにされていない。

申請者は嗅覚1次中枢の情報がどのように高次中枢に伝わるのかを調べるため、ショウジョウバエの GAL4 エンハンサートラップシステムを用いて、1次中枢である触角葉から2次中枢に至る2次神経、さらに2次中枢からより高次の脳領域に至る3次神経を体系的に同定し、これらの細胞が作る神経回路を解剖学的に明らかにした。まず1次中枢からの経路として、既知の4経路に加え新たに2経路を発見した。この結果、従来知られていたキノコ体と側角の2つの2次中枢以外に、前大脳の後側部、中央上部、上側部などが 1 次中枢からの嗅覚情報を直接受け取ることが明らかになった。2次神経には触角葉の単一糸球体のみを伝える神経と多数の糸球体の情報を伝える神経とがあるが、後者は脳の多くの領域に投射するのに対し、前者が投射するのは事実上キノコ体と側角だけであった。そこでこの型の神経の過半を占める iACT 投射神経に関して、2次中枢での投射様式を調べた。1次中枢の 43 個の糸球体のうち9個からの投射を解析したところ、これらは側角でもキノコ体でも同じように、3つの領域に収斂して投射していることが分かった。次にこの情報を3次神経がどのように受け取るかを調べた。側角の3次神経は従来ほとんど調べられていなかったが、今回始めてこれらの神経を同定した結果、側角3次神経の投射は2次神経が規定する3つの領域のどれかに限局しており、しかも側角の異なる領域に投射する3次神経は、それぞれ異なる脳内領域と連絡していた。一方キノコ体では、3次神経は2次中枢が規定する領域をまたがって投射していた。学習や経験に依存しない嗅覚刺激応答には側角の機能だけで十分であり、嗅覚連合学習にはキノコ体が必須であることが知られている。本研究によって、1次中枢の異なる糸球体グループから2次中枢の異なる領域に送られた嗅覚情報は、側角では分離したまま脳の別の領域へ送られ、キノコ体では混合して送られるという回路構造になっていることが判明した。こうした情報伝達様式の違いが、2つの主要2次中枢が担う機能の違いに関係している可能性が示唆された。

本研究は、脳の高次中枢が1次中枢からの嗅覚情報をどのように受け取っているかを明らかにした重要な研究であり、動物の嗅覚情報認識メカニズム解明に大きく貢献するものである。とくに3次神経の詳細な構造が始めて明らかになったこと、主要2次中枢のあいだで2次神経と3次神経の結合パターンが異なることが明らかになったことは、今後の同分野の研究をさらに発展させる手がかりになると期待され、学位授与にふさわしいものであると判断した。

本研究は脳における嗅覚情報認識メカニズムの本質的な問題に迫る研究であり、嗅覚系高次中枢での2次神経と3次神経の結合パターンを始めて明らかにしたこと、また定型的嗅覚応答と嗅覚学習・記憶に関与する2つの高次中枢においてそのパターンに違いがあることを明らかにしたことは、高く評価される。本学位論文は日本語によるものであるが、国際専門誌に本研究の一部を掲載した論文が受理されていることから、本申請者の英語能力は学位授与にふさわしいと判断した。また、審査会での質疑において申請者は的確に応答したことから、関連分野についても十分な知識を有し考察能力も優れており、学位授与にふさわしいと判断した。

本報告に基づく学位授与に関し、平成16年2月4日に開催した分子生物機構論選考委員会は、主査による審査経過概要の説明、本報告書の「論文審査結果」および「試験結果」に基づき慎重に審議した結果、審査委員会の結論を妥当なものと判断し、「可」とした。