解 説

嗅覚中枢における振動活動と伝搬波

渡 辺 恵

東京大学大学院医学系研究科*

Network Oscillations and Wave Propagation in an Invertebrate Olfactory Center

Satoshi Watanabe

Graduate School of Medicine, University of Tokyo*

概要

陸産軟体動物の嗅覚中枢である前脳葉には、伝搬波を伴う振動活動がみられ、匂い刺激に対して振動数と伝搬速度の増加が起きる。振動活動は匂いの識別に関与することが示唆されている。伝搬波は機能単位を形成するニューロン群の間の関係を決定し、高次の情報処理に関わっている可能性が考えられる。

1. 軟体動物前脳葉の振動活動

多くの中枢神経回路において、振動活動が自発性に生じたり刺激によって誘発されることが知られている。陸産軟体動物（ナメクジ）の前脳葉と呼ばれる嗅覚中枢では、約 1 Hz の規則的な局所場電位（LFP）の振動が記録されることが Gelperin らによって報告された¹⁾。前脳葉は脳の左右の外側部に位置する長さ数百 μm の領野で、直径数 μm の小型の神経細胞が 10 万個程度含まれている。前脳葉は触角からの嗅覚性の投射を主に受けており、嗅覚学習に関与する領野と考えられている。大触角と脳を共に単離した単離触角—脳標本を用いて、触角に匂い刺激を与えると、前脳葉の LFP 振動数は増加する（Fig. 1a）。LFP 振動とその匂い刺激による変化は、行動中の *in vivo* 測定でも記録される²⁾。LFP 振動は非常に特徴的な活動であるため、嗅覚情報処理に重要な役割を果たしていると予想され、そのメカニズムや機能について多くの研究が行われてきた。

振動活動を作り出す前脳葉の神経回路の構造については、主にパッチクランプ法を用いる単一ニューロン活動の解析と形態解析から明らかになってきた。前脳葉には活動パターンの異なる 2 種類のニューロンが存在している。グルタミン酸作動性の抑制性ニューロン（バースティングニューロン）はバースト発火を繰り返して³⁾、これがノンバースティングニューロンに対して周期的な抑制を生じる。この抑制性シナプス電位が LFP 振動として記録されると考えられている⁴⁾。

バースティングニューロンは比較的広い水平方向の投射を持ち、前脳葉の全体にわたって同期性の高い振動活動を作りだしている（Fig. 1c）。一方ノンバースティングニューロンは前脳葉のニューロンの大多数を占め、匂いの情報コーディングに中心的な役割を果たしていると考えられる。

2. 振動活動の機能

振動活動の行動学的意味を探るには、基本的な神経伝達や可塑性のメカニズムに影響を与えずに、振動活動の変化だけを阻害できるとよい。前脳葉の LFP 振動数は一酸化窒素（NO）により著しく増加し⁵⁾、NO 合成酵素の阻害剤を投与すると、匂い刺激時の LFP 振動数増加が阻害される⁶⁾。そこで次に NO 合成阻害剤の嗅覚嫌悪条件付けに対する効果を調べた。嗅覚嫌悪条件付けは、匂い物質の提示直後に苦み物質（キニジン）や電気刺激を与えることにより行うことができる。その結果、NO 合成阻害剤を投与した後に条件付けを行っても、通常と同じように学習が成立した。また条件付けの後、条件付けされた匂いに対する行動テストを行う直前に NO 合成阻害剤を投与しても、通常と同じように忌避行動が起きた。これらのことから、LFP 振動の変化は単純な学習自体には必須ではないことがわかる。

次に NO 合成阻害が匂いの識別に影響する可能性を調べるために、条件付けに用いた匂い（条件刺激）と、これとは別の匂いに対する行動を調べた。その結果、NO 合成阻害剤を投与すると、条件刺激と、それに構

* 〒 113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1

Fig. 1 Structure and activity of the procerebral lobe. (a) Oscillatory local field potential (LFP) from the procerebral lobe in an isolated nose-brain preparation of *Limax* and its modulation by olfactory stimulation. LFP was recorded from apical and basal sites. The frequency of the oscillation decreases in response to odor stimulation. (b) Expansion of two LFP events indicated in (a). The upper traces are from the apical recording site, and the lower traces are from the basal recording site. The phase lag between the two recording sites decreases from about 100 ms before odor stimulus (1) to less than 10 ms following the stimulus (2). (c) Schematic of the network of the procerebral lobe. Bursting (B) neurons produce oscillatory activity and propagating waves. Nonbursting (NB) neurons are connected with inputs from the tentacle and other brain regions, and are inhibited by periodic activity of bursting neurons. Clusters of cells that are synchronously active (dotted line) form a putative functional unit.

造的に類似した別の匂いの弁別が困難になることが示された⁷⁾。これらの結果は、匂いの正確な識別に NO による前脳葉の活動修飾が関与している可能性を示唆している。

神経回路が振動活動を持つ場合、入力タイミングに応じて異なる応答を引き起こすことができる。Inoue らは前脳葉において入力位相依存的なフィルター効果があることを明らかにした⁸⁾。触角神経束を電気刺激すると、嗅覚刺激の場合と同様に前脳葉の LFP 振動数が増加するが、この効果は刺激タイミングの位相によって異なり、ノンバースティングニューロンが過分極している LFP のピーク付近で弱く、ピークから離

れた位相で強かった。このことは、前脳葉に対する入力位相依存性に選択される可能性を示している。

前脳葉に対する嗅覚入力も多くは、触角先端近くに存在する触角神経節に由来するが、Ito らは触角神経節でも LFP 振動がみられることが明らかにした⁹⁾。触角神経節は一次中枢と考えられ、嗅覚受容細胞の多くが投射している。触角神経節から前脳葉への出力も振動的であることがわかる。嗅覚経路に 2 段階の振動回路が存在することは、その相互作用の点から興味深い。たとえば位相によって前脳葉に伝えられる情報が選別されることがあり得る。

3. 伝搬波の性質と生成メカニズム

前脳葉の LFP の多点測定や膜電位イメージングを用いた解析から、振動活動が前脳葉の部位によって異なる位相を持ち、全体としては前脳葉の先端部から基部の向きの伝搬波を形成することが明らかにされた¹⁰⁾。触角に匂い刺激を行うと、振動数が増加するとともに位相差が顕著に小さくなり、全体で同期性が高くなる (Fig. 1b)。

前脳葉は振動数の異なる局所振動回路が 1 次元に配置された結合振動子系として捉えることができる¹¹⁾。伝搬波の向きに垂直な向きに前脳葉を切り分けると、どの部分からも LFP 振動が記録できるが、その振動数は先端部に由来する部分で高く、基部に由来する部分で低い。このような固有振動数の勾配が原因となつて、回路を形成したときに伝搬波が生じると考えられる。実際、前脳葉が構造的には対称な神経回路であることは、低 Cl⁻ イオンなどの条件にした場合に伝搬波の向きが逆転することからもわかる^{3, 12)}。また前脳葉のバースティングニューロンの神経突起は伝搬波の向きに垂直な方向 (同位相面) に伸びているものが多いが¹³⁾、これによって同位相面内のニューロン間に特に強い結合が作られていると考えられる。

同位相面に含まれる細胞群は、前脳葉の機能単位を構成していると考えられる (Fig. 1c)。たとえば嗅覚条件付け後に蛍光色素を投与すると、同位相面に分布するニューロン群が蛍光色素を取り込み、表面からは帯状の細胞のクラスターとして観察される¹⁴⁾。条件付けした匂いで刺激したときの前脳葉の膜電位イメージングでも、同じような帯状の領域における強い活動がみられる¹⁵⁾。

4. 伝搬波の機能

振動活動は多くの中樞神経系で知られているが、その中で伝搬波がみられる場合に共通しているのは、神経回路全体での位相差が 1 周期 (2π) を超えないこと、つまりどの瞬間にも活性化されている領域が最大で 1 箇所にとどまることである¹⁶⁾。これによって位相によって神経回路の領域をユニークに決めることが可能であり、位相を利用したコーディングの可能性が考えられている。

中樞神経系の伝搬波に共通するもう一つの性質は、感覚刺激によって位相差が減少することである。前脳葉の場合、先端部と基部の間での振動の時間差は数百 ms 程度あるが、匂い刺激時にはこれが 10 ms 以下まで低下する。この時間差はシナプス可塑性が起きる場

合に重要な意味を持つ可能性がある。哺乳類の大脳皮質などではスパイクタイミング依存性のシナプス可塑性が知られているが、これはシナプス前細胞の発火後 10 ms 程度でシナプス後細胞が発火した場合にシナプス増強が起き、逆の順序で発火した場合にはシナプス抑圧が起きるものである。嗅覚中枢においてもこのような現象がみられる¹⁷⁾。通常は前脳葉の離れた部位の間では振動活動の位相差が大きく、シナプス可塑性は起きえないが、匂い刺激を受けて位相差が減少したときには、伝搬波の向き (先端部から基部の向き) のシナプスが強められ、逆向きのシナプスが弱められる可能性がある。

伝搬波の存在は、構造的に対称な回路に非対称性を与える。たとえば記憶を担うニューロン群が複数あったときに、それらの関係は、前脳葉の先端—基部軸上でのどのように配置されているかによって変わる。ナメクジの嗅覚嫌悪学習においては、すでに学習している匂いと新奇な匂いを同時に提示することで、新奇な匂いに対する条件付け (二次条件付け) が可能であるが¹⁸⁾、その場合には新しい記憶が古い記憶と関連付けられて作られると考えられる。それぞれの記憶が帯状のニューロン群に対応するなら、それらの間の結合が強化されると考えるのは妥当である。新しい記憶に対応するニューロン群が古い記憶に対応するニューロン群より先端部に近く配置されていれば、新しい記憶から古い記憶を想起することが容易に実現できるかもしれない。興味深いことに、前脳葉の先端部では生後もニューロン新生が起きている¹⁹⁾。このことは生後も新しい神経回路が前脳葉先端部に付け加えられることを示唆している。従って実際に新しい記憶は、古い記憶と結び付けられやすい先端部の近くに配置されている可能性がある。

5. おわりに

前脳葉の振動活動と伝搬波は興味深い顕著な現象であるが、その機能の解析はまだ限られており、多くが推測の域にとどまっている。神経回路のダイナミクスはニューロンやシナプスなどのマイクロなレベルと、行動レベルのいずれとも密接に関係した問題であり、研究にはこれまで困難が多かった。しかし現在の最先端の技術を用いれば、特定の学習行動に関与するニューロンの標識や選択的な活性化といったことも可能であり²⁰⁾、伝搬波のような回路レベルの現象についても、今後その機能の解明が進むのではないかと考えている。

軟体動物は少数のニューロンが構成する単純な機能回路を持つことが特徴であるが、前脳葉は 10 万個程度のニューロンを含む高度に発達した領野であり、単純

な固定的な回路として理解できる対象ではない。たとえば学習時に蛍光色素を投与すると帯状のニューロン群が染色されるが、このようなニューロン群が左右どちらの前脳葉でどの位置に現れるかは個体ごとに異なる。すなわち前脳葉の機能はあらかじめ固定されているのではなく、個体の個性や経験を反映しながら、その都度使われるニューロンが選ばれていると考えられる。このような柔軟性は、予測できない環境における適応を可能にするものであろう。脳が発達して高次の情報処理を行うようになればニューロンの数は必然的に増え、システムの自由度も高くなるが、同時に要素どうしを関係づけるメカニズムも必要になってくる。振動活動と伝搬波はそのメカニズムを解明するための鍵となる可能性がある。

参 考 文 献

- Gelperin, A., Tank, D.W. (1990): Odour-modulated collective network oscillations of olfactory interneurons in a terrestrial mollusc, *Nature*, Vol.345, pp.437-440
- Cooke, I.R., Gelperin, A. (2001): In vivo recordings of spontaneous and odor-modulated dynamics in the *Limax* olfactory lobe, *J. Neurobiol.*, Vol.46, pp.126-141
- Kleinfeld, D., Delaney, K.R., Fee, M.S., Flores, J.A., Tank, D.W., Gelperin, A. (1994): Dynamics of propagating waves in the olfactory network of a terrestrial mollusk: an electrical and optical study, *J. Neurophysiol.*, Vol.72, pp.1402-1419
- Watanabe, S., Kawahara, S., Kirino, Y. (1999): Glutamate induces Cl^- and K^+ currents in the olfactory interneurons of a terrestrial slug, *J. Comp. Physiol. A*, Vol.184, pp.553-562
- Gelperin, A. (1994): Nitric oxide mediates network oscillations of olfactory interneurons in a terrestrial mollusc, *Nature*, Vol.369, pp.61-63
- Yabumoto, T., Takanashi, F., Kirino, Y., Watanabe, S. (2008): Nitric oxide is involved in appetitive but not aversive olfactory learning in the land mollusk *Limax valentianus*, *Learn. Mem.*, Vol.15, pp.229-232
- Sakura, M., Kabetani, M., Watanabe, S., Kirino, Y. (2004): Impairment of olfactory discrimination by blockade of nitric oxide activity in the terrestrial slug *Limax valentianus*, *Neurosci. Lett.*, Vol.370, pp.257-261
- Inoue, T., Watanabe, S., Kawahara, S., Kirino, Y. (2000): Phase-dependent filtering of sensory information in the oscillatory olfactory center of a terrestrial mollusk, *J. Neurophysiol.*, Vol.84, pp.1112-1115
- Ito, I., Watanabe, S., Kirino, Y. (2006): Air movement evokes electro-olfactogram oscillations in the olfactory epithelium and modulates olfactory processing in a slug, *J. Neurophysiol.*, Vol.96, pp.1939-1948
- Delaney, K.R., Gelperin, A., Fee, M.S., Flores, J.A., Gervais, R., Tank, D.W., Kleinfeld, D. (1994): Waves and stimulus-modulated dynamics in an oscillating olfactory network, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol.91, pp.669-673
- Ermentrout, B., Flores, J., Gelperin, A. (1998): Minimal model of oscillations and waves in the *Limax* olfactory lobe with tests of the model's predictive power, *J. Neurophysiol.*, Vol.79, pp.2677-2689
- Watanabe, S., Inoue, T., Kirino, Y. (2003): Contribution of excitatory chloride conductance in the determination of the direction of traveling waves in an olfactory center, *J. Neurosci.*, Vol.23, pp.2932-2938
- Watanabe, S., Kawahara, S., Kirino, Y. (1998): Morphological characterization of the bursting and nonbursting neurones in the olfactory centre of the terrestrial slug *Limax marginatus*, *J. Exp. Biol.*, Vol.201, pp.925-930
- Kimura, T., Suzuki, H., Kono, E., Sekiguchi, T. (1998): Mapping of interneurons that contribute to food aversive conditioning in the slug brain, *Learn. Mem.*, Vol.4, pp.376-388
- Kimura, T., Toda, S., Sekiguchi, T., Kawahara, S., Kirino, Y. (1998): Optical recording analysis of olfactory response of the procerebral lobe in the slug brain, *Learn. Mem.*, Vol.4, pp.389-400
- Ermentrout, G.B., Kleinfeld, D. (2001): Traveling electrical waves in cortex: insights from phase dynamics and speculation on a computational role, *Neuron*, Vol.29, pp.33-44
- Cassenaer, S., Laurent, G. (2007): Hebbian STDP in mushroom bodies facilitates the synchronous flow of olfactory information in locusts, *Nature*, Vol.448, pp.709-713
- Sahley, C., Rudy, J.W., Gelperin, A. (1981): An analysis of associative learning in a terrestrial mollusc. I. Higher-order conditioning, blocking and a transient US pre-exposure effect, *J. Comp. Physiol. A*, Vol.144, pp.1-8
- Watanabe, S., Kirino, Y., Gelperin, A. (2008): Neural and molecular mechanisms of microcognition in *Limax*, *Learn. Mem.*, Vol.15, pp.633-642

- 20) Liu, X., Ramirez, S., Pang, P.T., Puryear, C.B., Govindarajan, A., Deisseroth, K., Tonegawa, S. (2012): Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall, *Nature*, Vol.484, pp.381–385