

博士学位論文審査要旨

2021年2月10日

論文題目: Olfactory cortex ventral tenia tecta neurons encode the distinct context-dependent behavioral states of goal-directed behaviors
(嗅皮質の腹側テニアテクタ神経細胞は、目標指向的行動において異なる文脈に依存した行動状態をコードする)

学位申請者: 塩谷 和基

審査委員:

主査: 脳科学研究科 教授 高橋 晋

副査: 脳科学研究科 教授 坂場 武史

副査: 脳科学研究科 教授 元山 純

要 旨:

動物はさまざまな匂いを嗅ぎ分けることで、食物、仲間、捕食者などを検知し、適切に行動する。しかし、どのようにして我々が匂いを識別できるかはいまだ不明である。そこで本研究は、嗅皮質内の一領域である腹側テニアテクタ (ventral tenia tecta (vTT)) を対象とし、匂いを手掛かり刺激とした2種類の学習行動課題を遂行しているマウスから vTT ニューロンの活動を記録することで、vTT ニューロンが匂いを手掛かりとした目標指向的行動においてどのような発火パターンを示すのかについて詳細に解析した。

匂いを弁別刺激とした Go/No-Go 課題中に、電気生理学的手法を用い6頭のマウスから、総数270個のvTTニューロンの活動を記録した。その結果、匂い提示期間で応答するニューロンの割合は記録した全体の30%ほどであり、その中でGoとNo-Goの試行の間で差があるニューロンはほとんど見られなかった。そこで、課題の全期間におけるニューロン活動を解析したところ、vTTニューロンは試行中のすべての行動状態をカバーするように応答することが示唆された。次に、匂いに基づき摂食するか摂食しないかを定める行動課題中に6頭のマウスから、総数374個のvTTニューロンの活動を記録した。その結果、餌に接近中、摂食中、実験者によって餌を取り上げられた状態などの様々な行動状態それぞれに対し、活動ピークを持つニューロンが多数存在した。また、上記のGo/No-Go課題と同様に、vTTニューロンは試行中のすべての行動状態をカバーするように応答することが示唆された。加えて、両方の行動課題での各期間に対し、vTTニューロンの活動ピークを含んだ持続応答時間と、各期間の行動状態の長さとの関係について詳しく調べた。その結果、2つの課題におけるvTTニューロンの持続応答時間は、行動状態の長さと同様に関連し、それが個々のニューロンによって異なることが示唆された。そこで、Go/No-Go課題において、マウスが匂い提示後の匂いポートにそのまま鼻を入れた状態を保っている期間に着目し解析した結果、文脈の違いによって異なる発火パターンを示すニューロンが多く見つかった。これらの結果から、vTTニューロンは目標指向的行動の間、特定の行動ではなく、特定の行動文脈に応じてその応答を調節していることが示唆された。最後にvTTに逆行性トレーサーを注入し、軸索末端から取り込ませた結果、mPFCから直接入力があることを確認した。さらに、順行性トレーサーと逆行性トレーサーを用いてvTTのmPFC以外との結合関係を調べた結果、vTTは嗅球からは求心性の入力を受け、mPFCからは遠心性の入力を受けており、さらに他の嗅皮質の幅広い領域と相互に結合していることが示された。

本論文は、vTT は末梢からの匂い入力を受けるだけでなく、文脈に依存する行動状態に対応した情報をコードしていることを明らかにした。よって、本論文は、博士（理学）（同志社大学）の学位を授与するにふさわしいものであると認められる。

総合試験結果の要旨

2021年2月10日

論文題目： Olfactory cortex ventral tenia tecta neurons encode the distinct context-dependent behavioral states of goal-directed behaviors
(嗅皮質の腹側テニアテクタ神経細胞は、目標指向的行動において異なる文脈に依存した行動状態をコードする)

学位申請者： 塩谷 和基

審査委員：

主 査： 脳科学研究科 教授 高橋 晋
副 査： 脳科学研究科 教授 坂場 武史
副 査： 脳科学研究科 教授 元山 純

要 旨：

塩谷和基氏は、2021年1月27日13時10分から90分間に渡り実施された公聴会において、「Olfactory cortex ventral tenia tecta neurons encode the distinct context-dependent behavioral states of goal-directed behaviors」と題する学位論文の内容を英語により報告し、その後、2021年1月28日11時00分から35分間に渡り口頭試問を受けた。

学位論文では、脳内の嗅皮質にある神経細胞の活動頻度を記録する必要があるため、行動する動物の脳内から複数の単一神経細胞活動を記録する手技や、その記録されたニューロン活動を解析する統計解析法といった研究遂行に必要な技術を習得していることが認められた。更に、その結果をまとめ、嗅皮質にある腹側テニアテクタ神経細胞が末梢からの匂い入力を受けるだけでなく、文脈に依存する行動状態に対応した情報をコードしていることを明らかにしたため、最先端の研究活動を遂行するために必要な実験機器を操作する能力や、そのデータの解析能力が認められ、実験結果から適切な結論を導き、その結論の妥当性を検証する能力や、テスト可能な仮説の提唱を行う能力があることが示された。加えて、実験計画は、塩谷氏自らが計画しており、学位研究の成果に関しては国際会議などでも発表していることから、主体性や国際交流を通じた協働性などが芽生えていることが認められた。また、英語により聴衆に対して学位論文の内容を明確に説明することができたため、研究に必要な外国語に通じていることが認められた。

以上のように、塩谷氏には、脳科学研究科が求める、研究者としての知識、技能、思考力、判断力、表現力、主体性、多様性、協働性が認められた。よって、総合試験の結果は合格であると認める。

博士學位論文要旨

論文題目：Olfactory cortex ventral tenia tecta neurons encode the distinct context-dependent behavioral states of goal-directed behaviors

(嗅皮質の腹側テニアテクタ神経細胞は、目標指向的行動において異なる文脈に依存した行動状態をコードする)

氏名：塩谷 和基

要旨：

動物はさまざまな匂いを嗅ぎ分けることで、食物、仲間、捕食者などを検知し、適切に行動する。そして、ほぼすべての揮発性化学物質（低分子量<300 Da）は、それぞれ異なる匂いとして知覚され、ヒトは他の哺乳類よりも劣るが、~10,000もの分子を異なる匂いとして識別することができる（Menini et al., 2004）。それでは、どのようにして我々は匂いを識別できるのだろうか？匂い分子は、鼻腔深部に位置する嗅上皮で受容されるが、嗅上皮下において、嗅覚受容体を発現する嗅神経細胞が匂い分子を検知する（L.B. Buck and R. Axel, 1991）。嗅神経細胞は単一の軸索を有し、一次中枢である嗅球の糸球体中で、僧帽・房飾細胞の樹状突起にグルタミン酸作動性の興奮性シナプスを形成している。その僧帽・房飾細胞の軸索は軸索束を作り、嗅球の後方外側で外側嗅索となって第二中枢である嗅皮質へと投射する。本研究はその嗅皮質内の一領域を対象とした。

1991年の嗅覚受容体の発見以降、嗅覚神経系の理解は急速に進み、嗅覚受容体を発現する嗅上皮や、嗅球での情報処理の基本原理は明らかになってきた。しかし、嗅皮質の機能解明は進んでおらず、嗅皮質において、匂い情報がどのようにして識別され行動出力に変換されるのかは未だ不明である。匂い情報は、単に嗅球からの感覚入力のみによって構成されているのではなく、高次脳領域からの入力にも大きく影響を受ける。特に嗅皮質の一領域である ventral tenia tecta (vTT) は、嗅球からの bottom-up の嗅覚情報と高次脳領域である medial prefrontal cortex (mPFC) からの top-down の高次情報の両方の入力を受けることが分かっている。しかし、vTT における匂いの情報処理や両入力による情報統合については、これまで未解明であった。本研究では、匂いを手掛かり刺激とした2種類の学習行動課題（水報酬を用いる Go/No-Go 学習行動課題、餌報酬を用いる eating/no-eating 学習行動課題）を遂行しているマウスから vTT ニューロンの活動を記録することで、vTT ニューロンが匂いを手掛かりとした目標指向的行動においてどのような発火パターンを示すのかについて詳細に解析した。

匂いを弁別刺激とした Go/No-Go 学習課題では、マウスが匂いポートに鼻を突っ込み、匂い A が出てくれば水ポートに行けば (Go) 水がもらえ、匂い B が出てくれば水ポートに行かず一定時間待つ (No-Go) という Go/No-Go 行動を学習させた。この匂いを用いた Go/No-Go 学習行動課題は2週間ほどの訓練で正答率が約9割に達した。学習完了後に、特殊電極(テトロード)とこれを操作する極小マイクロドライブをマウス頭蓋に安定的に固定する手術を行った。回復後、同じく Go/No-Go 学習課題中に、電気生理学的手法を用い6頭のマウスから、総数270個の vTT ニューロンの活動を記録した。まず、vTT は嗅球から直接入力を受ける嗅皮質の一領域であることから、匂い提示期間の活動について解析を行った。その結果、匂い提示期間で応答するニューロンの割合は記録した全体の30%ほどであり、その中で Go と No-Go の試行の間で差があるニューロンはほとんど見られなかった。そこで、vTT ニューロンは主に動物の行動状態を反映しているのでは

ないかという仮説を立てた。vIT ニューロンが匂い入力以外にどのような行動状態に反応するかを明らかにするために、マウスが匂いポートに鼻を突っ込み試行を開始する時点から実際に報酬を得るまでの全期間におけるニューロン活動を解析した。その結果、匂い提示期間以外においても、報酬の期待時や報酬の獲得時などの様々な行動状態のいずれかに対し、活動ピークを持つニューロンが多数存在することを発見した。すなわち、vIT ニューロンは試行中のすべての行動状態をカバーするように反応することが分かった。

この反応特性が、行動の文脈 (context)、内的状態、時間間隔が異なる課題においても共通の現象としてみられるのかを検証するために、匂いに基づき摂食するか摂食しないかを決定する学習行動課題 (eating/no-eating 学習行動課題) をマウスに訓練した。3 週間ほどで正答率が 8 割に達し、その後この行動課題を行っている 6 頭のマウスから、総数 374 個の vIT ニューロンの活動を記録した。その結果、餌に接近中、摂食中、実験者によって餌を取り上げられた状態などの様々な行動状態それぞれに対し、活動ピークを持つニューロンが多数存在することを発見した。そして、上記の Go/No-Go 学習行動課題と同様に、vIT ニューロンは試行中のすべての行動状態をカバーするように反応することが分かった。つまり、このような反応特性は、文脈、内的状態、時間間隔が異なる課題においても共通の現象として見られたことになる。

さらに、このような異なる 2 つの学習行動課題に共通した特徴を見出すために、両方の行動課題での各期間に対し、vIT ニューロンの活動ピークを含んだ持続反応時間と、各期間の行動状態の長さとの関係について詳しく調べた。その結果、2 つの学習行動課題における vIT ニューロンの持続反応時間は、行動状態の長さに関連し、それが個々のニューロンによって異なることが分かった。また、vIT ニューロンの活動ピークは、各々の行動状態の変化点に集まりやすいことも明らかになった。これらの結果は、個々の vIT ニューロンが目標指向的行動の間、特定の時間枠の中で持続反応時間と活動ピークによって反応の精度を調節していることを示唆している。また、vIT ニューロンの発火は、特定の行動状態にのみ反応するのではなく、課題中の各期間を超えて反応することが分かった。そこで、vIT ニューロンが特定の行動ではなく、特定の行動の文脈に対して反応を調節しているのかを確認するために、Go/No-Go 学習行動課題において、マウスが匂い提示後の匂いポートにそのまま鼻を入れた状態を保っている期間に着目し、ニューロン活動を解析した。この期間は、マウスが匂いポートから鼻を抜く直前であり、じっとしているという行動状態は同じではあるが、次が Go 行動か No-Go 行動かという異なる文脈に置かれている。そして、そのような文脈の違いによって異なる発火パターンを示すニューロンが多く見つかった。これらの結果から、vIT ニューロンは目標指向的行動の間、特定の行動ではなく、特定の行動文脈に応じてその反応を調節していることが示唆された。

最後に vIT の解剖学的特性を明らかにした。vIT に逆行性トレーサー (コレラトキシンサブユニット B) を注入し、軸索末端から取り込ませた結果、mPFC から直接入力があることを確認した。さらに、順行性トレーサーと逆行性トレーサーを用いて vIT の mPFC 以外との結合関係を調べた。その結果、vIT は嗅球からは求心性の入力を受け、mPFC からは遠心性の入力を受けており、さらに他の嗅皮質の幅広い領域と相互に結合していることが示された。

以上のことから、vIT は末梢からの匂い入力を受けるだけでなく、文脈に依存する行動状態に対応した情報をコードしていることが示された。mPFC は、行動状態に応じた文脈情報をコードする脳領域であると考えられており、解剖学的特性から vIT ニューロンは、mPFC から top-down の入力を受けることで、個々の行動状態に応じた文脈情報を表象する可能性が考えられる。さらに、vIT の機能が目標指向的行動の際に文脈に依存して動的に変化することが示唆された。