

## 【助成 40-56】

### 光操作技術による適切な行動を生み出す top-down 入力 の 解明

研究者 立命館大学 生命科学部 助教 塩谷 和基

#### 〔研究の概要〕

我々は、その時の状況(文脈)に依存して感覚情報を処理し適切な行動を取る。しかし、文脈に応じて感覚情報を正しい行動に結びつける神経メカニズムはいまだ十分解明されていない。そこで私は、感覚器官からの入力と適切な行動に必要な高次領域からの入力の双方を受ける嗅皮質を対象として、感覚-行動を結ぶ神経メカニズムの解明に取り組む。これまでに、嗅皮質の一亜領域である ventral tenia tecta(vTT)の神経細胞が文脈に依存した動物の行動状態に対して応答することを見出した。そして vTT が高次領域である medial prefrontal cortex (mPFC)から解剖学的な直接入力を受けていることから、vTT で見られる行動状態に対する文脈依存性の応答は、mPFC からの入力を反映したものであると考えた。単一ニューロン活動記録法と光遺伝学的手法を組み合わせることで、mPFC から vTT へ行動状態の情報が伝達されることを明らかにすることを目的とする。

#### 〔研究経過および成果〕

突然、部屋から焦げ臭さを感じた時には、とっさに火元や匂い源を確認する。しかし、家族の誰かが料理をしているような状況(文脈)であれば、同じ匂いを感じてもそのような行動はとらない(図 1)。このような、文脈に基づき感覚入力を行動出力に正しく結びつけるための神経回路の働きは、動物の生存においてきわめて重要である。しかし、末梢からの感覚情報が文脈に応じた意味を持つためには、高次領域からの情報と統合されなければならないが、どこでどのように情報統合が行われるのかはほとんど不明である。これまで感覚入力と高次領域からの入力の統合は、比較

的高次の情報処理段階で行われると考えられてきた( Miller et al., 2005)。しかし、情報処理が高次の段階へ進めば進むほど、感覚情報の持つ意味が不明瞭となるという問題があった。そこで私は、嗅覚系に注目することで、その問題を回避できると考えた。嗅覚は五感の中で唯一、感覚受容器からの入力が、視床を経由せずに、一次中枢である嗅球から二次中枢の嗅皮質へ最短でわずか 1 シナプスで到達するというシンプルな解剖学的構造をもつ。さらに、これまでに私は、mPFC から vTT へ解剖学的な直接投射があること、vTT の神経活動が文脈に依存した行動状態を表象すること、の2点を明らかにしてきた。この結果は、mPFC から vTT への投射経路が、文脈に基づいた行動情報を vTT に供給していることを示唆している。この示唆を仮説として検証するために、私は単一ニューロン活動記録法と、光遺伝学的手法を組み合わせることで、vTT の行動状態の情報が mPFC からもたらされるかどうかを確かめることが可能であると考えた。



図 1. 文脈に基づく嗅覚情報処理

mPFC から vTT への投射経路が、文脈に基づいた行動情報を vTT に供給しているのかどうかの検証するために、マイクロインジェクターを用いて、mPFC に遺伝子組み換えアデノ随伴ウイルス(AAV)を投与することによって、mPFC 神経細胞に特定波長の光を照射することで発現ニューロンの活動を抑制させるオプション(Arch3.0)を発現させた。さらに、vTT に光ファイバーと記録電極の挿入を行った(図2左)。こうすることで、mPFC から vTT へと投射する mPFC 神経細胞の軸索を人工的に抑制(光抑制)することができる。その時の vTT の神経活動を記録電極から前置増幅器(ヘッドアンプ)と最新の PLD(プログラマブル集積回路)を組み合わせて増幅させたシグナルの記録を行った。マウスが匂いから適切な行動を取るように、行動制御装置である Bpod を用いて匂いと報酬の有無を連合させた嗅覚古典的条件付け課題の訓練を行った(図2右)。

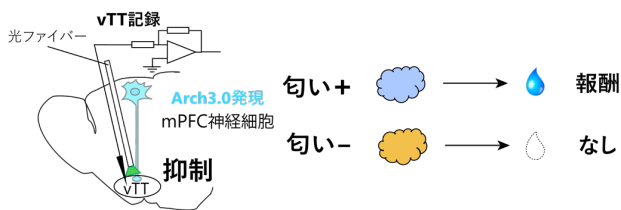


図2. (左) mPFC→vTT 投射の神経軸索抑制概略  
(右) 嗅覚古典的条件付け課題の概要

訓練後、マウスが行動課題遂行中に、mPFC から vTT へと投射する mPFC 神経細胞の軸索を特定のタイミングで光抑制し、その際の vTT の活動を記録することで、mPFC から vTT に行動状態の情報が送られるのかどうかを明らかにした。マウスは、行動課題を1日に 300-400 試行繰り返し行うことが出来、その中のランダムな試行において、試行開始から終了まで光抑制を行った。光抑制を行わない条件を統制条件とし、これらの比較を行った。結果として、これまでの自身の研究で見られたように、嗅覚古典的条件付け課題

においても vTT の神経活動は、光抑制を行わない条件では文脈に依存した様々な行動に対して応答する神経細胞が見られた(図3青線: 光抑制がない条件下での vTT 神経細胞応答)。こうした応答特性を持つ細胞に対して、mPFC から vTT へと投射する mPFC 神経細胞の軸索

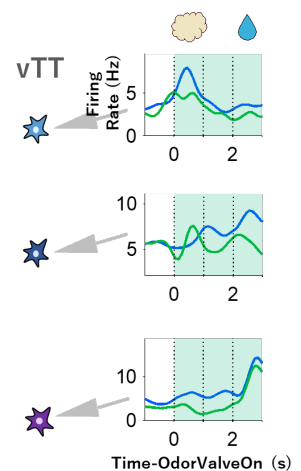


図3. mPFC→vTT の神経軸索抑制時における vTT 神経細胞応答

を光抑制することによって、光抑制を行わない条件に比べて vTT 神経細胞の活動が減ることが明らかとなった(図3 緑線: 光抑制条件下での vTT 神経細胞応答)。現在、複数の個体において vTT の神経細胞の記録ができた段階であり、全体で見ても、光抑制を行った条件では、光抑制を行わない条件と比べると、行動状態に応答した vTT 神経細胞の活動が有意に下がることが示された。これらの結果から、mPFC から vTT に行動状態の情報が送られていることが明らかとなった。

今後、光抑制するタイミングを試行開始から終了ではなく、任意に匂い提示区間や報酬区間などの短い時間で区切っていき、mPFC から vTT への入力される重要なタイミングを調べると共に、個体数を増やす予定である。さらに、mPFC から vTT の神経軸索の光抑制によって、マウスの行動変化について課題遂行中のマウスの行動動画について人工知能を用いた行動動画解析手法である DeepLabCut を用いて、より詳細に定量化した評価を行いたいと考えている。