

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2021

課題番号：17K07055

研究課題名（和文）島皮質味覚野と胃腸関連領野間のシータリズム同期化の生成機序

研究課題名（英文）The mechanism for the generation of theta-rhythm synchronization between the gustatory and gastrointestinal insular cortices

研究代表者

姜 英男（Kang, Youngnam）

大阪大学・人間科学研究科・招へい教授

研究者番号：50177755

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,800,000円

研究成果の概要（和文）：島皮質味覚野は、その尾側の胃腸自律領野や吻側の痛覚野との機能協働により、多様な機能を発現しうる。味覚野CB1受容体の活性化による味覚野と胃腸自律領野の神経細胞集団間のシータリズムでの周期的同期活動により、甘味や美味食品の過食が生じる可能性や、デルタリズムでの周期的同期活動により味覚嫌悪学習が行われ、偏食が発現する可能性を明らかにした。また、シータリズムはGABA受容体の阻害による影響を受けないが、デルタリズム生成にはGABA作動性神経細胞が関与する可能性を明らかにした。さらに、24時間絶食後には、CB1受容体が活性化され、それによりホルマリン誘発性痛覚反応第二相が抑制されることも明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

島皮質味覚野の錐体細胞において、CB1受容体が何らかの病的原因により過剰発現されると、視床下部満腹中枢による抑制にも拘らず、甘味食品や旨味食品の過食を引き起こす可能性がある。これにより、甘味食品や旨味食品の過剰摂取の脳メカニズムが解明されれば、肥満の予防法の開発にも寄与すると考えられる。また、島皮質での味覚嫌悪学習によると考えられる偏食などの脳メカニズムの解明につながることも期待される。さらに、絶食による痛覚緩和においても、CB1受容体の活性化が関与し、かつ、味覚認知の関与も認められたことから、各島皮質でのCB1受容体が皮質機能に応じた多様な機能をもつことが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：It was found that various functions occur as a result of the oscillatory synchronization between the two neuronal populations in the gustatory and its caudal gastrointestinal insular cortices and between those in the gustatory and its rostral pain insular cortices. CB1 receptor activation in the gustatory insular cortex causes oscillatory synchronization at theta rhythm between the two neuronal populations in the gustatory and gastrointestinal insular cortices, which would lead to overeating sweet and umami taste foods. Delta rhythm oscillatory synchronization would occur during taste aversion learning, resulting in unbalanced diet. In addition, it was clarified that activity of GABAergic neurons may be involved in delta rhythm generation while theta rhythm was not affected by the blockade of GABA receptors. Furthermore, it was revealed that a 24-hour fasting suppressed the second phase of the formalin-induced pain response through the activation of CB1 receptors.

研究分野：神経生理学

キーワード：島皮質味覚野 島皮質胃腸関連領野 島皮質痛覚野 カンナビノイド受容体 シータリズム デルタリズム 過食 味覚嫌悪学習

## 1. 研究開始当初の背景

私たちの食欲は、腸管の内分泌細胞から分泌されるさまざまな内因性脂質によって調節されている。空腹時には、脳内麻薬として知られるアナンダミドの血中濃度が増加し、N-オレオイルエタノールアミンの血中濃度が減少する(1, 2)。満腹時では、前者の血中濃度は減少し、後者の血中濃度は増加する(3, 4)。また、ラットやマウスを用いた実験から、アナンダミドの濃度は、空腹時に脳内で増加することが知られており、カンナビノイド受容体 (CB1受容体) を活性化して食欲を亢進させることが報告されている(5)。一方、N-オレオイルエタノールアミンを脳に投与すると、Gタンパク質共役型受容体119 (GPR119) または型ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 (PPAR) を活性化して、食欲を抑制することが報告されている(6)。しかしながら、摂食行動で問題となる過食や偏食を引き起こす脳機能は充分には明らかにされていない。特に、過食は、肥満やそれに伴う糖尿病等の生活習慣病を引き起こす可能性があり、その脳メカニズムの解明はそうした生活習慣病の予防や治療の観点からも重要である。

一般的に、認知・行動・情動などの高次脳機能は、一次皮質と高次連合野皮質或いは皮質下脳との間などの異なる階層間の機能協働の結果生じるものと考えられている(7)Buzsaki & Draguhn, 2004)。そうした機能協働は、異なる階層に存在する神経細胞群間での神経活動の周期的同期化、即ち、コヒーレンスに依存してもたらされることが、複数の細胞外電位記録や脳波、或いは、カルシウムイメージングや膜電位測光などの光学的方法を用いて示されてきた。過食や偏食といった食行動も、島皮質味覚野と胃腸関連領野間の機能協働により生じる可能性が高いと考えられる。

代表研究者らは、島皮質においてCB1受容体の活性化によりリズムの周期的同期化現象が島皮質味覚野と胃腸自律領野の間で生じることを膜電位測光法により明らかにした(図1)。リズムの周期的同期化の振動発生源は味覚野内に存在するが、その伝播先の胃腸自律領野の興奮が味覚野に何らかのフィードバック効果を与え、振動発生源に影響を与える可能性がある(図1B-D)。その可能性を検証するため、島皮質味覚野と胃腸関連領野の接合部付近の皮質全層を切断したスライス標本と皮質全層及びclaustrumまで切断した2種類のスライス標本作製し、AEAを投与して、oscillationを観察した。その結果、味覚野では5 Hz、胃腸関連領野では1~3 Hzのoscillationが、それぞれ独立に観察されたが(図2A-C)、皮質のみ切断したスライス標本では弱いcoherenceが観察され(図2D)、claustrumまで切断したスライス標本では、coherenceは消滅した。この結果から、リズムの生成部位は味覚野であることが確定し、フィードバック効果も顕著ではないことが明らかになった。さらに、島皮質胃腸関連領野はリズムの振動発生源になり得ることも確定した。従って、島皮質はと異なるリズムで活動し得ることが明らかになったが、このリズムの切り替えがどのような機能的意味をもつか、また、こうしたリズムの変化が過食や偏食などの食行動とどのような関連性があるのかが不明なままである。

## 2. 研究の目的

CB1受容体とGPR119の活性化は相反的な働きをするため、GPR119 KO マウスでは、AEAの投与なしに、自発的な島皮質味覚野と胃腸関連領野間の周期的同期化が生じている可能性があると考えられたため、AEA投与により、そのリズムが から への切り替わることも観察できると期

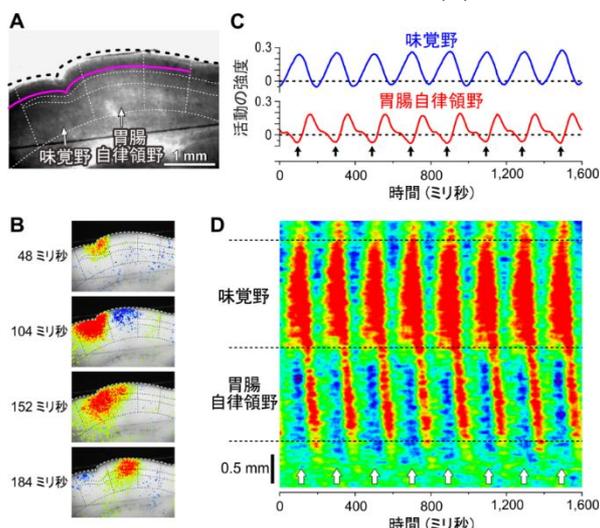


図1 : AEA により誘発される島皮質味覚野と胃腸自律領野間でのリズム周期的同期化現象

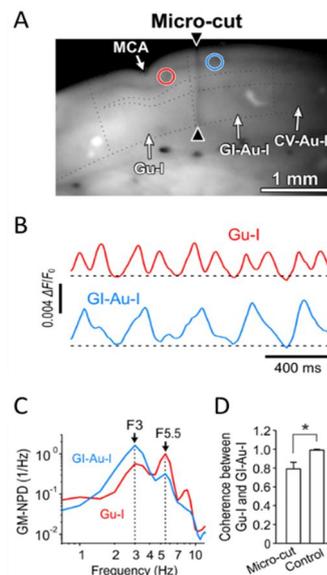


図2 : 島皮質味覚野と胃腸関連領野の隣接部皮質全層切断スライス標本における個別リズム生成

待されたため、GPR119 KO を用いた全動物標本における行動実験を計画した。こうした動物標本を用いて、同期化リズムの変化の機能的意義を明らかにし、実験的に過食を引き起こすことが可能かを本研究の目的とした。しかしながら、GPR119 KO マウスに特異的に発生する肝炎のため、実験遂行が困難を極め、本実験計画を変更せざるを得なくなった。そこで、(1)島皮質味覚野とその吻側に位置する無顆粒皮質の痛覚野島皮質との間の機能協関を明らかにすること、さらに、(2)偏食の機序であると考えられる味覚嫌悪学習に伴う、島皮質味覚野と胃腸領域間の機能的連関を明らかにすることを最終的な研究目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 島皮質痛覚野・胃腸自律領野と味覚野間の機能協関：雄性C57BL/6 マウス（体重 18-25 g）を用いて、24時間絶食後、或いは、24時間絶食+2時間摂食後の痛覚認知の変化について調べた。対照群は自由摂食を許し、ホルマリンテスト或いはHargreaves test により引き起こされるlicking 行動を測定する。

(2) 味覚嫌悪学習における島皮質痛覚野と胃腸自律領野間の機能協関：Wistar系アルビノ雄性ラットを用いて、島皮質味覚野に臭化エチジウムを注入し、同部位の神経細胞及びグリア細胞を破壊した標本作製し、サッカリンに対する味覚兼学習を行わせ、それを対照群と比較検討した。

### 4. 研究成果

(1) 島皮質における味覚情報処理に基づく摂食行動が痛覚認知にどのような影響を与えるかを調べるにより、島皮質味覚野及び胃腸自律領野の神経活動がその吻側に位置する島皮質痛覚野或いは他の痛覚中枢の情報処理にどのような影響を与えるかを明らかにした。この研究は、ソウル大学歯科大学校神経生物学教室（Prof. SB Oh）との共同研究であり、その研究成果の一部として、Scientific Reports 誌に論文"The analgesic effect of refeeding on acute and chronic inflammatory pain."を公表した。

ホルマリンをマウス後足に注入すると、二相性の疼痛反応が誘発される。第一相は一次求心性感覚ニューロンの直接的な活性化に起因すると考えられ、第二相は後角における求心性入力と中枢性感作の複合効果を反映すると考えられている。本研究では、ホルマリンにより誘発された疼痛反応のうち第二相のみが、24時間絶食後、有意に抑制された（図3）。この第二相の鎮痛効果は24時間絶食後2時間の摂食によっても有意に阻害されなかった

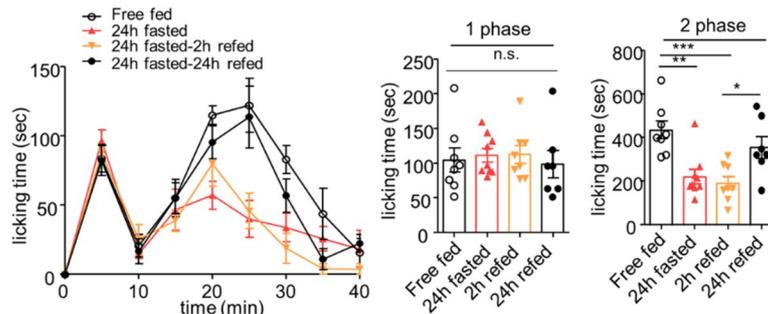


図3：絶食によるホルマリン誘発性痛覚の抑制

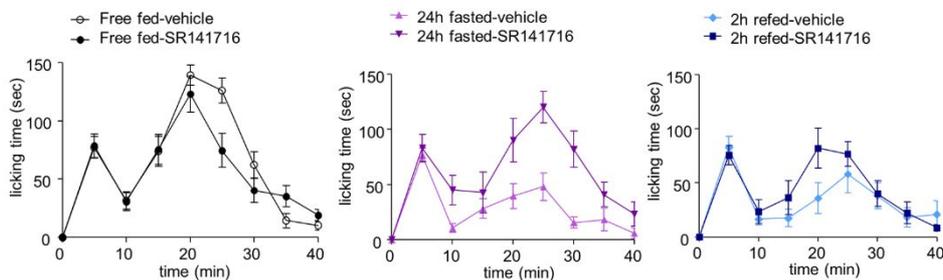


図4：CB1 受容体拮抗薬による絶食鎮痛効果の消失

が、24時間の自由摂食後には、鎮痛効果はほぼ消失した（図3）。こうした鎮痛効果はCB1受容体の拮抗薬であるSR-141716 の腹腔内投与下では認められなかった（図4）。

従って、絶食による鎮痛効果はCB1受容体の活性化により引き起こされたと考えられる。また、

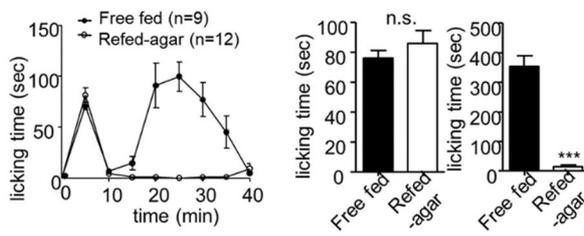


図5：絶食後アガー摂取による鎮痛効果の増強

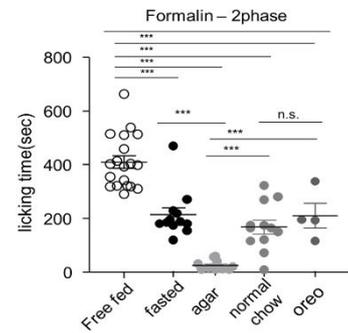


図6：24時間絶食後2時間アガー、通常飼料、オレオ摂取後のホルマリンテスト

24時間の絶食により、島皮質痛覚野においてCB1受容体の発現量が増加することも明らかにした。さらに興味深いことに、24時間絶食後の鎮痛効果は、アガーを摂食させ胃腸を膨満させると、逆に強く増強されて、第二相は完全に消失した(図5、6)。アガーは胃腸を膨満させるが、味覚(栄養)を伴わないことから、空腹ではないが、さらに食欲或いは飢餓感を増強し、味覚野の神経細胞集団がより同期化した自律的活動を示し、吻側の痛覚野に影響を与えた可能性が考えられる。こうした仮説・可能性をさらに検討し、味覚認知と鎮痛効果の連関において重要な役割を果たすと想定されるCB1受容体の働きが末梢性であるのか、或いは、中枢性(島皮質を含む)であるか、または、その両方を確立するための実験に着手した。まず初めに、CB1受容体の関与は末梢性(一次感覚ニューロンレベル)ではなく中枢性(島皮質痛覚野CB1受容体発現量増加を含む)であるという研究結果のみが得られた(7)。このことから、上位中枢性CB1受容体が関与する可能性がさらに強く示唆されたが、現在までに、島皮質の関与を直接立証する研究は完了していない。

(2) 味覚嫌悪学習の脳機構を明らかにするため、まず、イスラエル・ハイファ大学(Kobi Rosenblum 教授)にて行われた島皮質と扁桃核間の相互関係を明らかにする研究に共同研究者として参加した。その結果、味覚野島皮質では第5層錐体細胞が扁桃核に投射するが、島皮質胃腸関連領野では第2/3層錐体細胞が扁桃核に投射することが明らかになった。島皮質胃腸関連領野の第2/3層錐体細胞は皮質-皮質ニューロンであることから、扁桃核のみならず島皮質味覚野にも投射することが考えられ、味覚認知の異変を来す味覚嫌悪学習において重要な役割を果たすことが想定された。さらに、味覚野第5層錐体細胞は、脱分極通電により引き起こされるスパイク列の発火頻度が味覚嫌悪学習に伴い低下することが明らかになった。この発火抑制はスパイク後過分極の変化を伴わず、GABAA受容体の拮抗薬により阻害されることから、GABAA受容体を介する自己抑制作用(recurrent inhibition)によるものと考えられた。こうした所見は、島皮質味覚野と胃腸関連領野間の機能連関の存在を強く示唆するが、GABA作動性介在ニューロンの働きが味覚嫌悪学習に伴い強化された結果、島皮質味覚野と胃腸関連領野間のシータリズムの周期的同期化現象がデルタリズムに低下する可能性が示唆された。味覚嫌悪学習に伴い、島皮質味覚野第5層錐体細胞と胃腸領域第2/3層錐体細胞間の機能的連関が扁桃核を媒介して生じる可能性が明らかになった。

次に、大阪大学人間科学部行動生理学八十島研究室との共同研究として、味覚嫌悪学習における島皮質味覚野の役割をさらに明らかにする研究を行った。八十島研との共同研究においては、臭化エチジウムをラット島皮質にガラス管電極により直接注入し、島皮質味覚野神経細胞及びグリア細胞を破壊し、味覚嫌悪学習にどのような影響を与えるかを調べた。臭化エチジウムの注入部位は島皮質味覚野に局限しており、味覚嫌悪学習そのものには、顕著な影響は認められなかった。これは、恐らく、島皮質胃腸関連領野が正常に機能したためであると考えられる。しかし、味覚野の損傷により、味覚認知ができず、特異的味覚との連合学習は成立しなかったため、味覚非選択的な嫌悪学習が成立したことになる。つまり、選択的味覚嫌悪学習には島皮質味覚野の働きが必要であるという結論を導くことができた。

#### < 引用文献 >

- (1) R. Gomez, M. Navarro, B. Ferrer, J. M. Trigo, A. Bilbao, I. Del Arco, A. Cippitelli, F. Nava, D. Piomelli & F. Rodriguez de Fonseca: A Peripheral Mechanism for CB1 Cannabinoid Receptor-Dependent Modulation of Feeding. *J. Neurosci.*, 22, 9612 (2002).
- (2) A. A. Izzo, F. Piscitelli, R. Capasso, G. Aviello, B. Romano, F. Borrelli, S. Petrosino & V. Di Marzo: Peripheral endocannabinoid dysregulation in obesity: relation to intestinal motility and energy processing

induced by food deprivation and re-feeding. *Br. J. Pharmacol.*, 158, 451 (2009).

(3) J. Fu, G. Astarita, S. Gaetani, J. Kim, B. F. Cravatt, K. Mackie & D. Piomelli: Food Intake Regulates Oleoylethanolamide Formation and Degradation in the Proximal Small Intestine. *J. Biol. Chem.*, 282, 1518 (2007).

(4) F. Reimann, G. Tolhurst & F. M. Gribble: G-Protein-Coupled Receptors in Intestinal Chemosensation. *Cell Metab.*, 15, 421 (2011).

(5) L. Bellocchio, P. Lafenetre, A. Cannich, D. Cota, N. Puente, P. Grandes, F. Chaouloff, P. V. Piazza & G. Marsicano: Bimodal control of stimulated food intake by the endocannabinoid system. *Nat. Neurosci.*, 13, 281 (2010).

(6) E. Soria-Gomez, K. Guzman, O. Pech-Rueda, C. J. Montes-Rodriguez, M. Cisneros & O. Prospero-Garcia: Oleoylethanolamide affects food intake and sleep-waking cycle through a hypothalamic modulation. *Pharmacol. Res.*, 61, 379 (2010).

(7) Jeong-Yun Lee, Grace J Lee, Ayumi Nakamura, Pa Reum Lee, Yeajin Kim, Chan Hee Won, Hidemasa Furue, Seog Bae Oh: Involvement of cannabinoid type 1 receptor in fasting-induced analgesia. *Mol Pain*, 16:1744806920969476 (2020).

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Lee Jeong-Yun, Lee Grace J., Lee Pa Reum, Won Chan Hee, Kim Doyun, Kang Youngnam, Oh Seog Bae	4. 巻 9
2. 論文標題 The analgesic effect of refeeding on acute and chronic inflammatory pain	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-53149-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Kang Youngnam, Saito Mitsuru, Toyoda Hiroki	4. 巻 21
2. 論文標題 Molecular and Regulatory Mechanisms of Desensitization and Resensitization of GABAA Receptors with a Special Reference to Propofol/Barbiturate	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 563 ~ 563
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21020563	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yasuhiro Kawasaki, Mitsuru Saito, Jonghwa Won, Jin Young Bae, Hajime Sato, Hiroki Toyoda, Eriko Kuramoto, Mikihiro Kogo, Takuma Tanaka, Takehshi Kaneko, Seog Bae Oh, Yong Chul Bae and Youngnam Kang	4. 巻 12
2. 論文標題 Inhibition of GluR Current in Microvilli of Sensory Neurons via Na(+)-Microdomain Coupling among GluR, HCN channel and Na(+)/K(+) Pump	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 113: 1-21
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fncel.2018.00113	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Won J, Vang H, Kim JH, Lee PR, Kang Y, Oh SB	4. 巻 97
2. 論文標題 TRPM7 Mediates Mechanosensitivity in Adult Rat Odontoblasts.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Dental Research	6. 最初と最後の頁 1039-1046
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/0022034518759947	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Nishimura Kayo, Ohta Masahiro, Saito Mitsuru, Morita-Isogai Yukako, Sato Hajime, Kuramoto Eriko, Yin Dong Xu, Maeda Yoshinobu, Kaneko Takeshi, Yamashiro Takashi, Takada Kenji, Oh Seog Bae, Toyoda Hiroki, Kang Youngnam	4. 巻 12
2. 論文標題 Electrophysiological and Morphological Properties of and Motoneurons in the Rat Trigeminal Motor Nucleus	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 9: 1-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fncel.2018.00009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 姜 英男、豊田博紀	4. 巻 55
2. 論文標題 美味によって引き起こされる摂食行動の脳メカニズム	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 化学と生物	6. 最初と最後の頁 483-489
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1271/kagakutoseibutsu.55.483	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Y. KANG, M. SAITO, Y. BAE, S. OH
2. 発表標題 Inhibition of GluR current in microvilli of sensory neurons via Na <sup>+</sup> -microdomain coupling among GluR, HCN channel and Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> pump
3. 学会等名 Society for Neuroscience (Neuroscience 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 J.-Y. LEE, S. OH, Y. KANG
2. 発表標題 Acute fasting and refeeding alleviate pain via different pathway
3. 学会等名 Society for Neuroscience (Neuroscience 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Youngnam Kang
2. 発表標題 Oscillation and synchronization in the insular cortex
3. 学会等名 11th FENS Forum of Neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Youngnam Kang
2. 発表標題 A role of CB1R in inducing theta-rhythm coordination between the gustatory and gastrointestinal insula
3. 学会等名 FENS Regional Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	齋藤 充 (Saito Mitsuru) (50347770)	鹿児島大学・医歯学域歯学系・教授  (17701)	
研究分担者	八十島 安伸 (Yasoshima Yasunobu) (00273566)	大阪大学・人間科学研究科・教授  (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
韓国	Seoul National University	School of Dentistry	Department of Physiology	他1機関
韓国	Kyungpook National University	School of Dentistry	Department of Anatomy	他1機関
イスラエル	University of Haifa	N/A	Sagol Department of Neurobiology	他1機関