

令和 3 年 4 月 3 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2020

課題番号：17K08538

研究課題名（和文）島皮質における味覚情報処理の神経基盤解明

研究課題名（英文）Neuronal mechanisms of taste information processing in the insular cortex

研究代表者

豊田 博紀 (Toyoda, Hiroki)

大阪大学・歯学研究科・准教授

研究者番号：00432451

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：中枢神経系において味覚関連受容体の発現が認められるが、その生理学的役割には不明な点が多い。本研究では、島皮質味覚野に発現しているカプサイシン受容体（TRPV1受容体）、カンナビノイド1型（CB1）受容体およびうま味（T1R1/T1R3）受容体の生理学的役割を検討した。その結果、これらの味覚関連受容体が活性化されると、島皮質味覚野と自律神経関連領域との間に機能協調が生じることを見出した。このため、島皮質味覚野に発現している味覚関連受容体は、摂食行動や自律神経活動の調節に関わっている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、島皮質味覚野に発現している味覚関連受容体（TRPV1受容体、CB1受容体、T1R1/T1R3受容体）の生理学的役割の一端を明らかにした。一般的に味覚関連受容体は、末梢神経系において中心的な役割を果たすと考えられているが、中枢神経系においても重要な役割を果たしている可能性を明らかにしたため、学術的意義が高い。高次脳における味覚関連受容体の生理学的役割を明らかにすることで、健康増進に寄与することが期待される。

研究成果の概要（英文）：The taste-related receptors are expressed in the central nervous system, but their physiological roles are largely unknown. In this study, the functional roles of TRPV1, CB1 and T1R1/T1R3 receptors expressed in the rat insular cortex were studied using electrophysiological methods. It is possible that when these receptors are activated, the excitation arising from the taste insular cortex propagates into the autonomic insular cortex, causing modulation of food intake and autonomic activities.

研究分野：神経科学

キーワード：カプサイシン受容体 カンナビノイド受容体 うま味受容体 興奮伝播 パッチクランプ 島皮質 光学的膜電位測定法 味覚情報処理

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、味覚関連受容体の分子生物学的解明が急速に進展し、舌のみならず消化管においても発現が認められ、様々な生理機能を有することが明らかになりつつある。中枢神経系において、うま味受容体等の味覚関連受容体の発現が認められるが、生理的役割には不明な点が多い。島皮質は、味覚の受容・認知において非常に重要な脳部位であることが知られ、カプサイシン受容体 (TRPV1 受容体) およびカンナビノイド受容体 (CB1 受容体) 等の味覚関連受容体が豊富に発現している。熱刺激およびカプサイシンによって活性化される TRPV1 受容体は、痛みの情報を伝える神経経路に広く認められ、舌や口腔粘膜、そして島皮質味覚野の神経細胞にも存在することが知られている。また、米国エール大学の研究グループは、ヒト被験者がカプサイシンを摂取すると島皮質味覚野に神経活動が生じることを、機能的核磁気共鳴撮像装置を用いた実験により明らかにしている。このため、カプサイシンが口腔内の TRPV1 受容体を活性化し、その信号が味覚野 TRPV1 受容体を活性化することにより、「熱くて辛い」感覚として認知されている可能性が示唆されるが、詳細な神経機構は不明である。我々が空腹時、胃腸管および脳におけるアナンダミドの血中濃度は高く、逆にオレオイルエタノールアミドの血中濃度は低い。その一方、満腹時は逆の挙動を示すことが知られている。アナンダミドは、CB1 受容体を活性化することにより摂食行動を亢進し、オレオイルエタノールアミドは、PPAR 受容体または GPR119 を活性化することにより摂食行動を抑制する。近年、胃や腸管内分泌細胞に化学受容器が存在し、胃や腸管での化学情報は、同細胞から分泌されるアナンダミドやオレオイルエタノールアミドを介して中枢神経系に送られていることが明らかにされている。島皮質においては CB1 受容体が豊富に発現していることから、空腹時に増加するアナンダミドにより活性化され、摂食行動の亢進に参与する可能性が示唆される。しかし、島皮質に発現する CB1 受容体の機能的役割は知られていない。うま味受容体 (T1R1/T1R3) は、味蕾を構成する味細胞のみならず、消化管内分泌細胞においても発現しており、栄養素の受容および消化吸収後の代謝調節に寄与していると考えられている。興味深いことに、大脳皮質、海馬、視床下部等の中枢神経系においても、T1R ファミリー遺伝子 (T1R1・T1R2・T1R3) が発現していることが明らかとなり、視床下部に発現している甘味受容体 (T1R2/T1R3) が、脳内グルコースセンサーの役割を果たしている可能性が示唆されている。しかし、島皮質に発現しているうま味受容体 (T1R1/T1R3) の生理的役割は未だ不明である。これらの知見から、島皮質に発現する味覚関連受容体は、それぞれの受容体に応じて様々な生理機能を有している可能性が示唆される。

2. 研究の目的

本研究では、島皮質に発現している TRPV1 受容体、CB1 受容体および T1R1/T1R3 受容体に着目し、生理的役割について検討する。

(1) 島皮質に発現している TRPV1 受容体の役割解明

これまで我々は、不全顆粒島皮質から無顆粒島皮質移行部第 4 層に電気刺激を与えると、第 4 層に引き起こされた興奮は、第 2/3 層および第 5/6 層の両方向に伝播し、カラム状の興奮を示すことを明らかにしている。本研究では、島皮質味覚野に発現している TRPV1 受容体の活性化により、島皮質に生じる興奮伝播様式がどのように変化するかを明らかにする。

(2) 島皮質に発現している CB1 受容体の役割解明

島皮質味覚野に発現している CB1 受容体の活性化により、島皮質の神経活動がどのように変化するかを明らかにする。

(3) 島皮質に発現しているうま味受容体の役割解明

大脳皮質において、うま味受容体(T1R1/T1R3)が発現していることが報告されている。島皮質に発現するうま味受容体(T1R1/T1R3)の特徴についてはほとんど明らかにされていないため、本研究では、島皮質に発現しているうま味受容体(T1R1/T1R3)の電気生理学的性質について明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 光学的膜電位測定法を用いた膜電位島皮質味覚野で誘引される興奮伝播における味覚関連受容体の役割解明

生後 18~24 日齢のラットから、島皮質を含む厚さ 300 μm のスライス標本を作成し、膜電位感受性色素を負荷する。顕微鏡下の記録用チェンバーへ移す直前に、色素を含まない人工脳脊髄液に 15 分間浸漬し、余剰の色素を洗い流す。次に、島皮質の第 3/4 層に刺激用の金属電極を刺入する。この時、電極の先端が光学的信号撮影用 CCD カメラ (NeuroCCD-SM, RedShirtImaging 社製) の視野の中心に来る様にステージ位置を調整する。CCD カメラの解像度は約 20 $\mu\text{m}/\text{pixel}$ であり、撮影範囲は縦横約 1,600 μm (80 \times 80 pixels) である。サンプリングレート 1 kHz (full frame) で画像を記録する。光学的膜電位測定の準備が整った後、島皮質の第 3 層又は 4 層に刺激用の金属電極を刺入し、通電によって生じる興奮の伝播様式を光学的に観察する。TRPV1 チャンネルアゴニスト (カプサイシン) 投与前後における興奮伝播様式を記録し、得られた結果を比較検討することにより、TRPV1 チャンネルが興奮伝播様式に与える影響を明らかにする。また、光学的膜電位測定の準備が整った後、内因性カンナビノイドであるアナンダミドの灌流投与によって、島皮質の神経活動がどのように変化するかを検討する。

(2) 島皮質に発現するうま味受容体(T1R1/T1R3)の電気生理学的性質の解明

(1) で述べた様にスライス標本を作成し、第 2/3 層及び第 5/6 層に位置する錐体細胞からホールセルパッチクランプ記録を行う。そして、膜電流固定下で、グルタミン酸ナトリウム (200 μM) を投与したときの電圧応答を観察する。電圧応答変化が認められた際は、電圧応答変化に関わるシグナル伝達経路を明らかにする。

4. 研究成果

(1) 島皮質に発現する TRPV1 受容体の役割解明

これまで我々は、不全顆粒島皮質から無顆粒島皮質移行部第 IV 層に電気刺激を与えると、第 4 層に引き起こされた興奮は第 2/3 層および第 5/6 層の両方向に伝播し、カラム状の興奮を示すことを明らかにしている。本研究では、島皮質味覚野に発現している TRPV1 受容体の活性化により、島皮質に生じる興奮伝播様式がどのように変化するかを観察した。カプサイシン非存在下で不全顆粒島皮質と無顆粒島皮質移行部第 4 層に電気刺激を与えると、第 4 層で生じた興奮は第 2/3 層および第 5/6 層の両方向に伝播し、カラム状の興奮を示した後、消失した (図 1A)。一方、カプサイシン存在下では、味覚野の電気刺激によって生じた神経活動は、味覚野尾側に隣接する自律機能関連領域へと拡がり、両領域の神経細胞集団の間にシータリズム (4~8 Hz) で同期化した神経ネットワーク活動が形成されていた (図 1B)。また、このシータリズムの周期的神経活動は、島皮質の浅層と深層にある神経細胞が、それぞれ 4Hz および 8Hz で活動した結果もたらされることを明らかにした。

我々は唐辛子を含む食品を摂取すると、顔に汗をかいたり、唾液が出たり、血行が促進されるなどの身体反応が生じる。これらの反応は、摂取したカプサイシンが胃腸管の粘膜中にある痛覚神経線維終末のカプサイシン受容体を活性化し、内臓-内臓間の自律神経反射を引き起こした結果生じるものと考えられてきた。しかし、本研究により、味覚の情報処理に関わる「味覚野」と、血液循環や呼吸、消化な

どの内臓機能をコントロールする「自律機能関連領野」の神経活動が、島皮質味覚野に発現する TRPV1 受容体の活性化によって協調する可能性を見出すことができた。つまり、こうした神経活動により、カプサイシンを含む食品を摂取した際にみられる発汗、唾液分泌や心臓血管系の活性化等の身体反応が引き起こされている可能性が示唆される。カプサイシンを含有する食物を摂取した際に生じる「辛味」という感覚の認知が、自律機能関連領野を活性化し、全身の内臓機能ひいては全身の健康状態に影響を与える可能性を示す所見である。

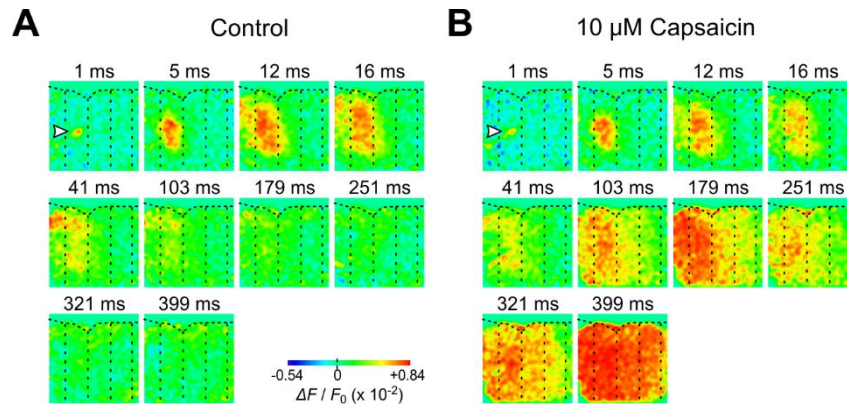


Figure 1. 味覚野第 4 層刺激により誘発される興奮に対するカプサイシンの効果

- A. カプサイシン非存在下における第 4 層微小電気刺激によって生じた興奮の疑似カラーイメージ。
- B. カプサイシン存在下における第 4 層微小電気刺激によって生じた興奮の疑似カラーイメージ。

(2) 島皮質に発現する CB1 受容体の役割解明

光学的膜電位測定法を用い、内因性カンナビノイドであるアナンダミドの灌流投与によって、島皮質ニューロン活動がどのような活動を示すかを検討した。不全顆粒島皮質(味覚野: Gu-I)と顆粒島皮質吻側部(自律神経関連領野のうちの胃腸領域: GI-Au-I)を含むラットスライス標本(図 2A)にアナンダミドを投与したところ、島皮質味覚野においてオシレーションが発生し、味覚野尾側に隣接する島皮質胃腸関連領域へと広がっていた。そして、両領野間の神経細胞集団の間に 5 Hz で同期化した神経ネットワーク活動が生じていた(図 2B および 2C)。そうしたオシレーションが、CB1 受容体抑制剤である AM251 によって消失したことから、CB1 受容体を介してオシレーションが生じていることが明らかとなった。島皮質においては、calbindin 陽性 GABA 細胞の軸索終末に CB1 受容体が豊富に発現しており、その分布密度は、島皮質胃腸関連領域に比べて島皮質味覚野で高いことが示されている。このため、アナンダミド投与後、calbindin 陽性 GABA 細胞からの脱抑制によってオシレーションが引き起こされているものと考えられる。また、オレオイルエタノールアミドの投与によりオシレーションが消失した。この結果から、アナンダミドによって引き起こされたオシレーションは、PPAR 受容体または GPR119 の活性化により抑制されることが明らかになった。

島皮質味覚野は、舌の味細胞の化学受容器からの情報を受け取り、その尾側に位置する自律神経領野は、胃や腸管分泌細胞由来の化学感覚を受容している。アナンダミドの血中濃度は空腹時で高いことから、空腹時に摂食した場合、島皮質の味覚野と胃腸領域間に機能協調が生じ、摂食行動の亢進に参与する可能性が示唆される。その一方、満腹時に摂食した場合、オレオイルエタノールアミンの働きにより島皮質の味覚野と胃腸領域間の機能協調が生じにくいいため、摂食行動の抑制に参与している

可能性が示唆される。また、こうしたオシレーションが、空腹時と満腹時では味覚が異なることを説明する神経基盤である可能性が示唆される。

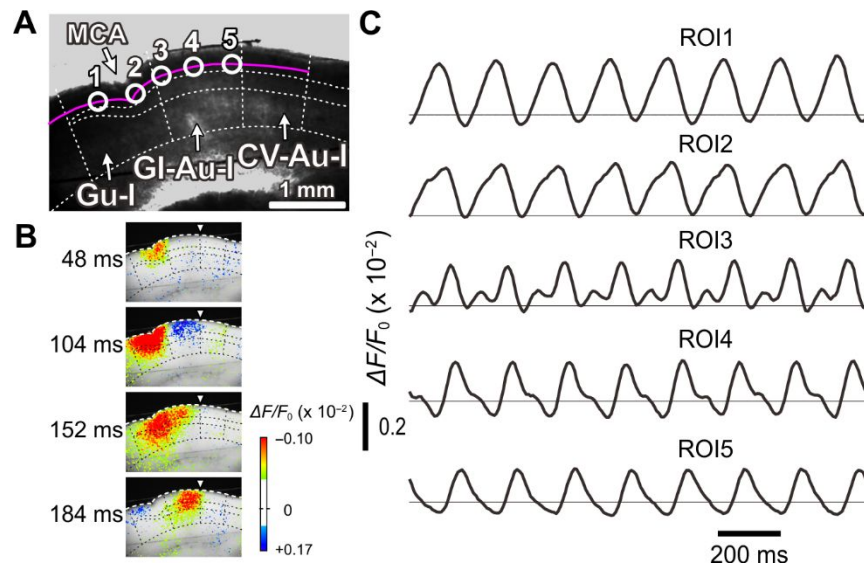


Figure 2. アナンダミド灌流投与後に観察される島皮質味覚野と島皮質胃腸領域間に生じるネットワークオシレーション

A. 島皮質味覚野の静止時光強度。MCA: 中大脳動脈。Gu-I: 島皮質味覚野。GI-Au-I: 島皮質胃腸領域。CV-Au-I: 島皮質心臓血管領域。

B. アナンダミド灌流投与後に観察される疑似カラーイメージ。

C. ROI-1～ROI-5 における時間的プロファイル。

(3) 島皮質に発現するうま味受容体 (T1R1/T1R3) の役割解明

島皮質に発現しているうま味受容体 (T1R1/T1R3) の電気生理学的性質について、ホールセルパッチクランプを用いて検討した。島皮質第 3 層錐体細胞からホールセルを形成し、膜電位固定下でグルタミン酸ナトリウム (200 μ M) を投与したところ、スパイク発火が認められた。次に、細胞外液 Ca^{2+} 除去の効果を検討したところ、スパイクの頻度が減少した。この結果から、うま味受容体活性化後に生じる電位依存性 Ca^{2+} チャンネルを介した Ca^{2+} の流入が、スパイクの発生に重要である可能性が示唆された。さらに、細胞内液 GTP 除去の効果を検討したところ、スパイクの頻度が減少した。この結果から、うま味受容体活性化後に生じる G タンパク質 サブユニットの活性化が、スパイクの発生に重要である可能性が示唆された。今後、さらにシグナル伝達経路を検討したいと考えている。

これまでの報告により、視床下部に発現している甘味受容体 (T1R2/T1R3) が、脳内グルコースセンサーの役割を果たしている可能性が示唆されているため、島皮質に発現しているうま味受容体 (T1R1/T1R3) が中枢化学受容器として作用している可能性が示唆される。今後さらに、うま味受容体 (T1R1/T1R3) の生理学的意義を明らかにしたいと考えている。うま味は、快い感覚を導く味質であるが、それと同時に、哺乳類が生きていく上で必要な栄養素 (アミノ酸や核酸) が含まれている食品を、体内に積極的に摂取する必要があることを知らせる味質である。高次脳におけるうま味受容メカニズムを理解し、健康増進や摂食障害の治療に貢献したいと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Toyoda H	4. 巻 73
2. 論文標題 Interaction of nicotinic acetylcholine receptors with dopamine receptors in synaptic plasticity of the mouse insular cortex	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Synapse	6. 最初と最後の頁 e22094
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/syn.22094	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 -
1. 著者名 Toyoda H	4. 巻 50
2. 論文標題 Nicotinic activity layer-specifically modulates synaptic potentiation in the mouse insular cortex	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 European Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 2211-2223
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ejn.13857	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 -
1. 著者名 Toyoda H	4. 巻 61
2. 論文標題 Role of nicotinic acetylcholine receptors for modulation of microcircuits in the agranular insular cortex	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Oral Biosciences	6. 最初と最後の頁 5-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.job.2018.12.001	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 -
1. 著者名 Toyoda H	4. 巻 4
2. 論文標題 Layer-dependent modulation of mouse insular synaptic activities by nicotinic acetylcholine receptors	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Reward Deficiency Syndrome and Addiction Science	6. 最初と最後の頁 9-12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.17756/jrdsas.2018-041	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 Sato H, Kawano T, Yin DX, Kato T, Toyoda H	4. 巻 358
2. 論文標題 Nicotinic activity depresses synaptic potentiation in layer V pyramidal neurons of mouse insular cortex	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 13~27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuroscience.2017.06.031	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 -

1. 著者名 Toyoda Hiroki	4. 巻 -
2. 論文標題 Nicotine facilitates synaptic depression in layer V pyramidal neurons of the mouse insular cortex	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neulet.2018.02.046	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 -

1. 著者名 Toyoda H	4. 巻 -
2. 論文標題 Nicotinic activity layer specifically modulates synaptic potentiation in the mouse insular cortex	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 European Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ejn.13857	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 -

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Toyoda H, Sato H, Yin DX, Kato T
2. 発表標題 Nicotine layer-specifically modulates synaptic plasticity in the mouse insular cortex
3. 学会等名 FAOPS2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Toyoda H, Sato H, Yin DX, Kato T
2. 発表標題 Nicotinic activity differentially modulates synaptic plasticity in layers III and VI pyramidal neurons of the mouse insular cortex
3. 学会等名 Oral Neuroscience 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 豊田博紀, 佐藤元, 加藤隆史
2. 発表標題 マウス島皮質のシナプス長期増強におけるニコチン受容体の役割
3. 学会等名 第61回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Toyoda H, Kawano T, Shimoda M, Sato H, Yin DX, Katagiri A, Kato T
2. 発表標題 Role of intracellular Ca ²⁺ stores in layer 2/3 pyramidal cells of the somatosensory cortex during oxygen and glucose deprivation
3. 学会等名 Oral Neuroscience 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 豊田博紀, 佐藤元, 尹東旭, 加藤隆史
2. 発表標題 ニコチンはマウス島皮質におけるシナプス可塑性を調節する
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 豊田博紀, 佐藤元, 河野奨
2. 発表標題 喫煙が島皮質における味覚受容に及ぼす影響
3. 学会等名 喫煙科学研究財団研究発表会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Toyoda H, Sato H, Kawano T, Yin DX, Kato T
2. 発表標題 Nicotine suppresses synaptic potentiation in layer V pyramidal neurons of the insular cortex
3. 学会等名 Oral Neuroscience 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 豊田博紀
2. 発表標題 喫煙が島皮質における味覚受容に及ぼす影響
3. 学会等名 喫煙科学研究財団研究発表会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 豊田博紀, 佐藤元, 尹東旭, 姜英男
2. 発表標題 アナンダミドにより島皮質味覚野と胃腸自律領野間にネットワークオシレーションが誘発される
3. 学会等名 第94回日本生理学会大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Toyoda H	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Springer International Publishing	5. 総ページ数 6060
3. 書名 Encyclopedia of Signaling Molecules, 2nd Edition	

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------