

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07353

研究課題名(和文) 摂食関連行動時に活性化される島皮質神経細胞群による食欲調節メカニズムの解明

研究課題名(英文) Mechanism for appetite regulation by activated cortical neurons during food anticipation

研究代表者

楠本 郁恵 (Kusumoto, Ikue)

鹿児島大学・医歯学域医学系・助教

研究者番号：80724757

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、我々の誰もが持つ「食べたい」という欲求が生じるメカニズムを明らかにすることを大きな目標として実験を行った。これまでの研究では、「食べる」行動が、脳内の特定の神経核や伝達物質、さらには、末梢からの因子などによって調節されていることが明らかにされてきているが、「食べたい」という「欲」については、まだそれが生じる仕組みについて不明な点が多い。私たちは、これまで困難であった「欲」の部分に着目するため、比較的長時間、動物が餌を欲する行動タスクを利用し、餌を欲している時間帯に活性化する神経細胞を観察し、大脳皮質を含む複数の脳領域での神経活動を確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

「食べる」行動は、生きている動物すべてに必要な行動であるが、その「欲望」の起こる仕組みについてはこれまで研究することが難しかった。我々は、単純な「食べる」行動タスクではあるが、比較的長時間「欲する」行動を動物に表出させることのできる行動タスクを活用することで、「欲する」ときに活動していた神経細胞群を確認することができた。本研究の成果と現代で利用可能な遺伝子改変動物、技術を活用することで、本研究で確認された活性化神経細胞群の機能的役割を研究する道が開かれたと考えている。「欲望」の調節は、時として我々人類の多くが望むことであるが、その生じるメカニズムを知ることで、調節することにも貢献したい。

研究成果の概要(英文)：Appetite is a basic drive that is essential to survival for all animals. It has been investigated that neurons or nucleus that is linked to regulation of eating behavior. How the behavior is motivated were less explored. We adopted a behavioral task that enable us to observe motivation for eating relatively longer time period in mice. We found activation of some cortical neurons and other nuclei during the motivated time period.

研究分野：神経科学

キーワード：餌予測行動 c-fos 食欲

1. 研究開始当初の背景

我々の誰もが持つ「食べたい」という欲望は、強く表出されても弱くしか表出されなくても生命に影響する、生きるために欠かすことのできない情動である。昨今の西洋化された生活スタイルと、食産業の低価格化が相まって、人類はますます容易に食べ物を手に入れることができるようになっており、「食べたい」という欲望との今までにない戦いを強いられている。

この「食べたい」という欲望は、脳の中の神経回路によって形成されると考えられる。「摂食」も、生きていく動物すべてにとってなくてはならない行動であり、これまでも多くの研究がなされてきた。一方で、「食べる」ための「欲」については、具体的な神経回路やメカニズムについてはまだ理解が乏しいのが現状である。私たちは、これまでに、味覚や内臓感覚の情報を統合する脳領域である大脳皮質・島皮質に着目して、その食欲への関与について調べてきた。島皮質は、これまで多くの研究者が感覚皮質としての役割に着目した研究を行ってきた脳領域であり、特に、味覚野としての生理的特性や機能について多くのことが明らかにされてきた。それらに加えて注目されているのが、島皮質の「欲望」や「渴望感」といった精神現象への関与である。喫煙を続けていた患者が、島皮質を何らかの理由で失うことで、煙草に対する渴望感がなくなること、ラットにおいて、依存性薬物の投与を受けられる「場」への嗜好性が、島皮質神経活動を抑制することで消失することなどの研究結果が報告されている。そして私たちは、それらの結果に加える形で、自然の報酬である食物に対する欲望の発揮への島皮質の関与を調べてきた。島皮質が、依存性物質や、食物のような非依存性物質への欲求に対して何らかの役割を果たしていると考えられる実験結果がこれまでに得られているが、島皮質がどのような仕組みで欲望に関わるのかについては、まだ不明な点が多い。そこで、本研究では、島皮質が関与すると考えられる食に対する欲望の神経回路メカニズムの解明を目標に実験を行うことにした。

2. 研究の目的

私たちがこれまで調べてきた島皮質の食への欲望への関与が、具体的にどのような神経回路メカニズムによって発揮されているのかを明らかにするため、動物が食べ物を欲している状態を実験的に作成することによって、そのときに活性化された島皮質の神経細胞に焦点を絞り、その細胞の解剖学的位置や、同時に活性化される他の脳領域にある神経細胞群について調べることにした。

3. 研究の方法

「食べる」行動については、今までも世界中の多くの研究者によって調べられてきた。しかし、食への「欲」がどのように脳で生まれているのかについては研究があまり進んでいなかった。その理由には、「食べる」行動に比べて、(1)実験動物で食への「欲」が生じる時間を見極めることが難しかったこと、(2)「欲」を生じているであろう短い時間に焦点を絞った実験を行うことが難しかったことなどが考えられた。これまでの研究では、実験動物にレバー押しやノーズポークなどの特定の行動をさせることで、彼らの欲求度合いを測る手法が主に用いられており、私たちも同様の手法でマウスの欲求度を評価してきた。しかし、その方法では、レバー押しまたはノーズポークのために動物が費やす時間は数秒程度に限られ、その間に活動している神経細胞を網羅的に観察することは容易ではなかった。

そこで、私たちは、比較的長い時間に渡って実験動物であるマウスが餌を求める行動を示す行動パラダイムを、今回採用することにした。これまでの研究では、動物にとって意味のない音や光の刺激(手がかり刺激)と、餌などの食べ物の獲得とを関連付ける学習を行わせることで、手がかり刺激に対しても起こす行動反応が指標として利用されていたが、今回採用した方法では、餌を獲得できる時間を一日のうちの一定の時間に決めること(間欠的給餌法)で、マウスが餌時間前に示す行動反応を指標とした。そして、神経活動の有無は、組織学的実験により評価した。

また、「欲」が生じていると考えられる時間帯に活性化した神経細胞を標的としてそれらの機能評価が行えるように、最初期遺伝子である c-fos プロモーター下でテトラサイクリントランスアクティベーターを発現するまたは、Arc プロモーター下で cre 配列を発現させる遺伝子改変マウスを導入することにした。

4. 研究成果

本研究では、比較的長い時間に渡ってマウスが餌を求める行動を示すと考えられた実験パラダイムとして、間欠的給餌法を用いて、マウスに2週間の摂食制限を行った。マウスは、12時間ごとの明暗サイクルで飼育し、餌は、1日のうちの連続する4時間に限り摂取することができた。その間、継続的に摂食量と行動量の記録を行いマウスの様子を観察した。2週間の間欠的給餌を経たマウスの示す行動反応としては、給餌時間の約2時間前から給餌時間までの行動量増

加が観察された。この行動反応は、給餌前の時間帯に、もうすぐ餌を得られることを予測して餌を探す行動を始めているのではないかと考えられた。そこで、給餌前の餌を予測していると考えられる時間帯の、島皮質を含む脳の活性化領域を調べるために、餌予測行動を示した動物の脳サンプルを採取し、最初期遺伝子である c-fos の発現を観察することにした。

最初に、餌予測行動を示した動物で、どの脳領域が活性化していたかを観察した。島皮質においては、吻側から尾側に至るまで、島皮質での c-fos 発現細胞数の増加が観察された。餌予測行動を示した動物の同じ脳サンプルを用いて他の脳領域での神経活動を観察したところ、島皮質にも軸索を投射していることが知られている、視床下部のオレキシンニューロンのうち c-fos を発現する細胞数も増加していることが分かった。

次に、島皮質の餌予測時間中の神経細胞活性化が、(1) どの脳領域からの神経入力によって起こっているのか、(2) 活性化された神経細胞が摂食関連行動のどの側面に影響を与えるのかなどの問いに答えるため、神経活動依存的にテトラサイクリントランスアクティベーターを発現させる c-fos-tTA マウスや、神経活動依存的に cre 配列を発現させる Arc-cre マウスを利用することを検討した。まず、これら2種類の遺伝子改変マウスが、ウイルスベクターの対象領域への投与によって蛍光タンパクを発現することを確認した。次に、間欠的給餌法を刺激とした場合に、どちらがより多くの活性化神経細胞を標識できるかを検討するために、間欠的給餌法を用いて餌予測行動を示した動物の脳サンプルで、2種類の最初期遺伝子である c-fos と Arc の発現が観察されるか調べた。その結果、餌予測行動による Arc の発現の増加は、c-fos で観察されたほどの変化が見られず、私たちが用いている行動パラダイムと観察脳領域では、c-fos を利用する方が適していることが分かった。

最後に、従来の間欠的給餌法の問題点でもあった、2週間の摂食制限期間が最適であるかどうかの検討も行った。マウスの行動変化を指標としたところ、摂食制限開始数日で、給餌時間前の行動量増加(餌予測行動)を示すようになった。そして、島皮質での c-fos 発現増加も、摂食制限開始1週間で、2週間の摂食制限を行った動物群と同レベルの変化を観察できることが分かった。

以上のことから、間欠的給餌法を用いて、c-fos の発現を指標として用いることにより、今後、活性化神経細胞群の機能解析につなげられると考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Jingyang Su, Zhi Li, Akira Yamashita, Ikue Kusumoto-Yoshida, Takuto Isomichi, Liying Hao & Tomoyuki Kuwaki	4. 巻 10
2. 論文標題 Involvement of the Nucleus Accumbens in Chocolate-induced Cataplexy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-61823-4	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 Ikoma Yoko, Kusumoto-Yoshida Ikue, Yamanaka Akihiro, Otsuka Youichirou, Kuwaki Tomoyuki	4. 巻 9
2. 論文標題 Inactivation of Serotonergic Neurons in the Rostral Medullary Raphe Attenuates Stress-Induced Tachypnea and Tachycardia in Mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	6. 最初と最後の頁 1-16
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fphys.2018.00832	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

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 楠本（吉田）郁恵
2. 発表標題 島皮質による食欲調節メカニズムの解析
3. 学会等名 第32回日本動物細胞工学会2019年度大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 楠本 吉田郁恵、Ma Jihao、山口蘭、桑木共之
2. 発表標題 Hypothalamic regulation of cortical activity for repetitive behavior
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Jihao Ma, Sakurako Yanase, Lisa Udagawa, Tomoyuki Kuwaki and Ikue Kusumoto-Yoshida
2. 発表標題 Analysis of activated cortical area caused by food restriction in mice
3. 学会等名 Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies 9th FAOPS congress (国際学会)
4. 発表年 2019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

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