

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K18942

研究課題名（和文）摂食調節に関わる神経回路および分子メカニズムの解明

研究課題名（英文）The exploration of neural circuits and molecular mechanisms involved in feeding regulation

研究代表者

遠井 政行 (Tooi, Masayuki)

東京医科歯科大学・東京医科歯科大学病院・特任助教

研究者番号：50815363

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：摂食行動を制御する神経回路を解明するためにショウジョウバエを用いて糖質に対する摂食行動に着目して研究を行った。糖質摂食行動に対する実験モデルを構築し、野生型のハエでは16時間後に糖質に対する摂食行動が増加し始めた。ハエの脳内で広範囲にドーパミンニューロンを活性化すると、空腹の有無とは無関係に糖質摂食行動を促進させることを可能にすることが明らかとなった。Split Gal4ラインを用いて摂食関連神経群の選定を行った結果、PAMまたはPPL1のサブセットが摂食に関与する可能性があり、特にPPL1-γ1のニューロン群の活性化が安定して摂食行動を増強させ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

摂食行動は我々が生きていく中で必須の行為である。しかし、COVID-19パンデミックや世界的な気候変動は我々の安全を絶えず脅かし続け、世界は様々なストレスに満ち溢れており、現代人の多くが摂食行動を乱し、体調の不調や、過食症や拒食症といった摂食障害、糖尿病、肥満などの生活習慣病を招いている。ストレスはすべての人が感じる問題であるが、これをコントロールして正常な摂食行動を維持することは生きていく中で非常に重要なことである。つまり、摂食行動の制御に対する神経回路の解明は摂食に関連する疾患における医療への応用が可能であり、健康で活動的な社会形成の根幹をなす重要な項目となりうると期待される。

研究成果の概要（英文）：To elucidate the neural circuits that regulate feeding behavior, I focused on behavioral changes in *Drosophila* caused by carbohydrate intake. I constructed an experimental model of carbohydrate feeding behavior in *Drosophila* and observed that wild-type flies began to increase their carbohydrate intake after a 16-hour fast. The activation of many dopaminergic neurons in the fly brain could promote carbohydrate intake behavior, independent of the presence or absence of hunger. To select dopaminergic neuron groups strongly associated with carbohydrate feeding behavior, the Split Gal4 lines were used and revealed that a subset of PAM or PPL1 could be involved in feeding. In particular, the activation of PPL1-γ1 would constantly enhance feeding behavior.

研究分野：神経生物学

キーワード：糖質摂食 ドーパミンニューロン 摂食行動 ショウジョウバエ

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

生命はその活動に必要なエネルギーを得るために摂食行動を行うが、摂食行動の乱れによる生活習慣病や精神疾患での摂食行動の不調は現代社会の大きな問題である。しかし、我々の神経システムがどのようにして体内の栄養状態を把握し、摂食行動を調整しているかは、まだ十分に理解されていない。摂食行動については、さまざまなモデルで研究が行われており、ヒトを含めた哺乳類では、血中グルコース濃度を感知する神経細胞が視床下部に存在し、摂食行動を調節していることや、最近では、腸管から放出される各種ペプチド類が摂食行動に影響を与えることが報告されている。無脊椎動物では、ショウジョウバエを用いた摂食行動の研究が広く行われており、摂食に関わる分子群として、ドーパミン、オクトパミン、ニューロペプチド F、インスリン様ペプチド等があることが知られている。

また、摂食行動を規定するメカニズムを解明する研究として、ヒトのグルカゴンに相当するハエのホルモンである脂質動員ホルモン（AKH）を人工的に放出させ、ショウジョウバエの血中浸透圧を上昇させると摂食を行わないにも関わらず満腹感を得ることが明らかにされた（Gruber F. et al: Curr Biol. 2013）。そして、ショウジョウバエの食道下神経節（SEZ）領域から糖類と水の消費を調整するニューロン群が同定された。これらのニューロンには、ホルモン受容体 AKHR（adipokinetic hormone receptor）と浸透圧感受性イオンチャネル Nan（Nanchung）という二種類のレセプターが共発現し、その相反的な活性化が糖質または水分の摂取を制御していることが明らかになった（Jourjine N. et al: cell. 2016）。さらには、ショウジョウバエにおいて空腹状態と食の情報（味覚）の2つの情報が連合して摂食行動を調整していることや（Yapici N. et al: cell. 2016）、ショウジョウバエのドーパミン作動性ニューロンが空腹と満腹情報を受け取り、嗅覚（匂い）との連合学習により摂食行動に影響を及ぼす可能性があることが報告された（Tsao CH. et al: Elife. 2018）。

しかし、AKH やドーパミン等の摂食関連分子やニューロンが摂食行動に関連があるものの、神経回路としてどのように統合されているのか、まだ十分に理解が得られていない。

2. 研究の目的

本研究では、糖質摂食行動を制御する分子群を解析し、それに伴う神経回路を解明することで摂食行動の分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

（1）糖質摂食行動に対する実験モデルの構築

羽化後2～5日のショウジョウバエ（ n^{2202u} ）を用いて実験を行った。25℃の環境下で飼育し、一度氷冷温度下で麻酔をかけた後、96穴プレート（ウェルに等間隔で Sucrose と Brilliant Blue FCF を含む水溶液を分注）にハエを移動させ、1時間静置する。その後、摂食量の観察を行った。同時に、PBS/ethanol で腹部をホモジナイズして吸光度（OD630 値）を計測した。

（2）食欲制御に対してドーパミンニューロンが関与する可能性の検討

UAS-GAL4 システムのもとで、汎ドーパミン作動性ニューロンドライバー（Tyrosine hydroxylase をコードする pale 遺伝子を利用）を用いて温度感受性 Trp チャネルを異所性に発現させたトランスジェニックバエ（pale×dTrpA1）を作製して摂食行動を評価した。コントロールには UAS-CD8:GFP を用いた（pale×cont）。

（3）糖質摂食を誘導するドーパミン作動性ニューロンの探索

25種類の Split Gal4 ラインを用いてドーパミンニューロンの異なるサブセットで dTrpA1 を発現させたトランスジェニック動物を作製し、摂食行動の実験に用いた。

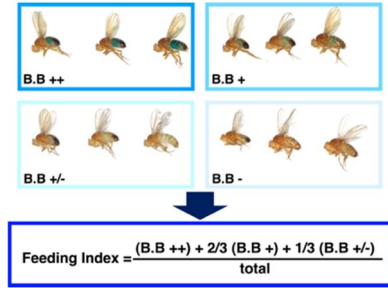
（4）摂食行動関連性が強く示唆された系統における検討

（3）において摂食行動と関連性が強く疑われる系統において、ドーパミン作動性ニューロンを人工的に活性化させるハエ以外にも、コントロールとなる UAS-CD8:GFP を用いて、各々作成したトランスジェニックバエと摂食量を比較検討した。

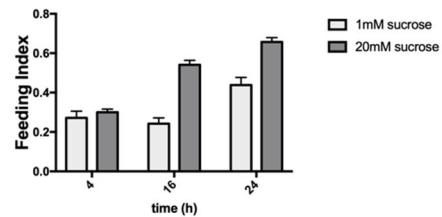
4. 研究成果

(1) 糖質摂食行動に対する実験モデルの構築

(1-1) Sucrose 水溶液に Brilliant Blue FCF を配合した飼料をハエに摂食させ、ハエの腹部に内包される Brilliant Blue FCF の濃淡を実体顕微鏡下で視覚的に観察し、4段階（濃い（摂食量が多い）方から順に、B.B ++, B.B +, B.B +/-, B.B -（摂食無し））にクラス分類する。各クラスの匹数に係数を乗じて、総匹数で割った値を、そのサンプルにおける Feeding Index (F.I) を定義した。同一サンプルのハエ腹部に含まれる、Brilliant Blue FCF を抽出後、その量を最大吸収波長 630nm の吸光度で測定した結果、摂食量と吸光度の間には正の相関を認め、データの客観性を担保した。以降は F.I を用いて摂食行動を評価した。

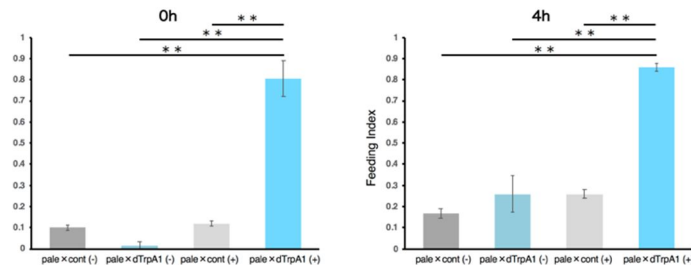


(1-2) 4~24 時間ハエを絶食（水は与える）させた後に 1 mM または、20mM Sucrose の飼料を 1 時間摂食した後の F.I の変化を調べた。20mM Sucrose の飼料を摂食した群で 16 時間経過後に F.I が上昇し始めたことで、糖質に対する摂食欲求は絶食 16 時間後付近で生じる可能性が示唆された。



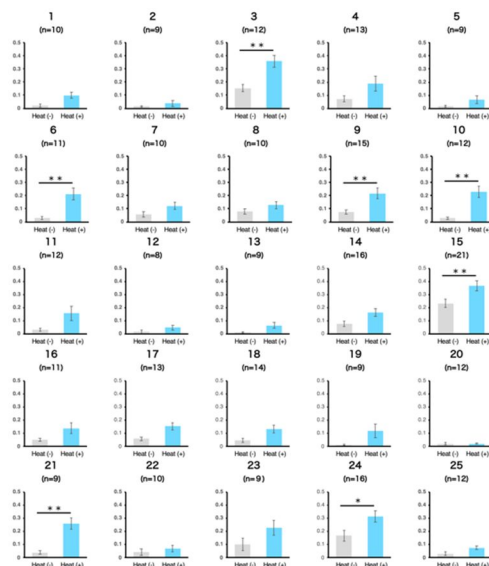
(2) 食欲制御に対してドーパミンニューロンが関与する可能性の検討

ドーパミンニューロンを人工的に活性化するハエを用いて、絶食時間無しで熱刺激を加え、20mM Sucrose の飼料を摂食させた後の F.I の変化を調べた（下図、左）。ドーパミン作動性ニューロン群を活性化させた群 (pale × dTrpA1 (+)) でのみ、F.I の著明な増加を認めた。((-) と (+) は熱刺激の有無を示している)。また、4 時間絶食（水は与える）させた後の摂食量の変化を調べた（下図、右）が、同様に pale × dTrpA1 (+) でのみ他と比べ F.I に著明な増加を認めた。pale × dTrpA1 (+) 以外は、全体的に摂食量が絶食時間無しに比べると絶食 4 時間後には上昇している。このことから、広範囲でのドーパミンニューロンの活性化は摂食行動を増進させることに影響することが示唆された。



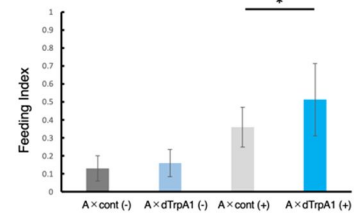
(3) 糖質摂食を誘導するドーパミン作動性ニューロンの探索

ドーパミンニューロンは、成虫の脳内で複数のグループを形成して存在しているため、(2) の結果を踏まえて、どのドーパミンニューロン（単身またはグループ）が糖質の摂食行動に関与しているかについて調べるため、25 種類の Split Gal4 ラインを用いてドーパミンニューロンの異なるサブセットで dTrpA1 を発現させたトランスジェニックハエを準備し実験に用いた。絶食時間無しで熱刺激を加え、20mM Sucrose の飼料を摂食させた後の F.I の変化を調べた。25 種類の多くは F.I=0.2 未満であったため、ドーパミンニューロンを活性化させ、F.I が 0.2 を超える群で選別を行った。その結果、7 系統のラインで有意な F.I の上昇を認めた。この中で、各ラインにおいて活性化されるドーパミンニューロンの組み合わせを比較した結果、PAM (Protocerebral anterior medial) または PPL1 (Protocerebral posterior lateral) のサブセット（特に、PAM- α1、PAM- β1、PPL1- γ1 のニューロン群）が糖質摂食に関与する可能性があることが示唆された。



(4) 摂食行動関連性が強く示唆された系統における検討

熱刺激等によるドーパミンニューロンの活性化以外の因子が摂食行動に影響を及ぼしている可能性を検討するために、(3)で選定された系統において、ドーパミン作動性ニューロンを人工的に活性化させるハエ以外にも、コントロールとなる UAS-CD8:GFP を用いてトランスジェニックハエを作製し摂食行動実験を行った。その結果、特に PPL1- γ 1 のニューロン群を活性化させたライン(A)が安定して摂食行動を増強させる可能性が示唆された。今後より詳細な検討や神経ネットワークの解析が必要である。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 遠井 政行、近藤 真啓、荒川 真一、網干 博文
2. 発表標題 ショウジョウバエの糖質摂食を誘導するドパミン作動性ニューロンの探索
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021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
---------	---------