

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：24303

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19735

研究課題名（和文）水のおいしさを担う神経機構の解明

研究課題名（英文）Neural mechanisms underlying palatability of drinking water

研究代表者

野村 憲吾（Kengo, Nomura）

京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・助教

研究者番号：10734519

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：体液状態の異常（特に水欠乏）は水のおいしさを増強し、飲水行動を促進させる。この行動は体液の恒常性、ひいては生命維持に必須のフィードバック機構であるが、飲水プロセスの中核である『脳内で水のおいしさを形成する神経メカニズム』は全くわかっていない。そこで、水に応答し、飲水行動に関わる脳領域の特定と、その中で水の摂取に関わる神経サブグループの探索をおこなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、『水感覚』が味覚であるという概念を創出するとともに、味覚や満腹感とは独立して“おいしさ”ニューロンの活動を自在に操作する技術の開発につながる。将来的には“おいしさ”の真の心理生理的意義の解明に発展すると考えている。また、神経科学における重要な新しいコンセプトとして、外界を表現する情報である味覚と、体内環境の情報処理により生じる欲求が交差する具体的な神経回路を解明することで、体の内外をつなぐ神経機構モデルを提供する潜在性がある。さらに、介入的に飲水を促す医薬品の開発など、高齢者脱水の予防のための新しい概念に基づく方策の立案にもつながる。

研究成果の概要（英文）：Disorders in body fluids, particularly water deficiency, enhance the palatability of water and promote drinking behavior. This behavior is an essential feedback mechanism for maintaining fluid homeostasis and, by extension, for sustaining life. However, the neural mechanisms that form the core of the drinking process, specifically those that create the sensation of water palatability in the brain, are not well understood. Therefore, we aimed to identify the brain regions that respond to water and are involved in drinking behavior, and to explore the neural subgroups within these regions that are associated with water intake.

研究分野：生理学

キーワード：水 味覚 脳

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

体液状態の異常(特に水欠乏)は水のおいしさを増強し、飲水行動を促進させる。この行動は体液の恒常性、ひいては生命維持に必須のフィードバック機構であるが、飲水プロセスの中核である『脳内で水のおいしさを形成する神経メカニズム』は全くわかっていない。

2. 研究の目的

そこで本研究は、口腔内の水の味を担う神経細胞(水味ニューロン)を同定し、体液状態に応じて水のおいしさを形成するための脳内機構を解明することを目的とした

3. 研究の方法

申請者らは最近の予備実験から、脳内の味覚領域に口腔内の水感覚が入力されており、水の摂取行動に必須であることを見出した。そこで、下記の実験をおこなった。まず、脳深部 in vivo イメージングシステムを用いて口腔内の水に瞬時に応答する神経細胞が存在することを証明する。加えて、温度や物性ではなく“水”という成分を認識する可能性、すなわち『水味』が脳内で生じているという申請者の仮説を検証する。

次に、神経活動を自在に操作する光遺伝学技術を用いて、PBN が飲水行動に関与するか調べる。そこでさらに、水へのアクセス頻度や速度を解析し、水欲求ではなく水の味を担うことを確認する。

加えて、独自に取得した1細胞トランスクリプトーム解析データと既知の知見を組み合わせ、水の味を担う神経細胞サブグループの候補を絞り込む実験をおこなった。

4. 研究成果

まず、脳深部 in vivo イメージングシステムを用いて口腔内の水に瞬時に応答する神経細胞が存在するか調べる実験をおこなった。マウスの口腔内を水、様々な水溶液、水ではない液体などで刺激し、水に応答する細胞が存在するかどうかを確認した。

具体的には、Ca インジケーターである GCaMP を用いて細胞内 Ca 濃度を可視化し、GCaMP 蛍光強度の上昇を神経細胞の活性化として評価した。まず、GCaMP をコードする遺伝子を持つ AAV ベクターをマウスの脳内に注入したのち、直径 0.5 mm 程度の内視鏡レンズ (GRIN レンズ) をマウス脳内に刺入しておく。実験の際には、マウスの頭部を固定して正立蛍光顕微鏡下におき、顕微鏡の対物レンズを通じて、内視鏡レンズ下の脳領域の蛍光イメージングを実施した。飲み口から様々な溶液を順番にマウスに提示し、蛍光輝度の変化を1細胞レベルで解析した。実験後に、マウスの体動にともなう視野のブレを補正し、神経細胞の検出と抽出、標準化をおこなって神経活動の変化を評価した。その結果、水特異的に応答する神経細胞の有無と、その応答特性が明らかになった。

加えて、この領域の活動を抑制する実験をおこなった。光遺伝学技術を用いて抑制し、水の摂取量や水の識別行動に影響があるか確認した。水の摂取量を解析する実験では、水を充填した飲み口を複数用意し、それを順番にマウスに提示する。マウスが飲み口を舐めて水の摂取を開始してから5秒間のあいだにどのくらいの量の水を飲んだかを、『舐めた回数』で検出する。通常、脱水状態のマウスでは5秒間のあいだほぼ途絶えることなく飲み口を舐め続ける。この行動をおこなっている最中に、マウスの脳内で特定の領域の神経活動を抑制して、舐める回数に変化するかを解析した。抑制には、抑制のオンオフを切り替えることが可能な光遺伝学を採用した。具体的には、塩化物イオンポンプであるハロロドプシンを用いた。事前に、このポンプをコードする遺伝子を持つ AAV ベクターをマウスの脳内に注入したのち、直径 0.5 mm 程度の光ファイバーをマウス脳内に刺入しておく。実験の際に、光ファイバーを通じて黄色レーザー光を脳内に照射すると、照射された領域において神経活動を抑制することができる。複数の飲み口を順番に提示していく中で、光照射による抑制をおこなう飲み口とおこなわない飲み口をランダムに設定することで、神経活動の抑制による影響を定量評価した。その結果、標的領域の神経活動が水の摂取行動に関与するかどうか評価することができた。さらに、標的領域の神経細胞から情報を受け取る下流脳領域のうち、水の摂取行動に関与する領域を同定することができた。

水の識別行動を調べる実験では、報酬を用いた学習実験をおこなった。まず、マウスに識別テスト用の飲み口を提示し、水あるいは水を含まない液体を少量摂取させる。提示後、テスト溶液提示用とは異なる2つの飲み口 A B が提示され、マウスはこのどちらかにアクセスして報酬(高カロリー流動食)を得る。この飲み口は、それぞれがテスト溶液の種類(水、あるいは水を含まない

い液体)と対応しており、テスト溶液が水であれば、Aの飲み口を舐めれば報酬が得られ、水でない場合には、Bの飲み口から報酬が得られる。反対の飲み口を選んでしまった場合には報酬が得られない。この仕組みを用いてマウスを訓練した結果、マウスが水とそれ以外の液体を区別することができるを見出した。さらに、学習成立後のマウスに対して様々なテスト溶液を提示することで、提示した溶液を水と判断したか、水ではないと判断したかを調べることが出来た。さらに上記と同様の光遺伝学実験をおこなって神経活動を抑制し、水の識別ができなくなるか調べ、標的領域の神経活動が水の識別に関与するかどうか評価することができた。さらに、標的領域の神経細胞から情報を受け取る下流脳領域のうち、水の識別に関与する領域を同定することができた。

最後に、標的の脳領域の神経細胞のうちのいくつかのサブグループに注目し、そのサブグループの活動を抑制したときに上記の行動に影響があらわれるか調べ、特定のサブグループの関与の可能性を見出した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究協力者	山田 優 (Yamada Yu)		
研究協力者	樽野 陽幸 (Taruno Akiyuki)		
研究協力者	相馬 祥吾 (Soma Shogo)		
研究協力者	村上 達郎 (Murakami Tatsuro)		
研究協力者	シャーウッド マーク (Sherwood Mark)		
研究協力者	早津 徳人 (Hayatsu Norihito)		

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	森岡 優貴子 (Morioka Yukiko)		
研究協力者	加藤 梨絵 (Kato Rie)		

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