

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 25 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592818

研究課題名(和文) 摂食行動を制御する味覚回路とその情報処理機構

研究課題名(英文) Visualization of Neural circuits controlling feeding behavior

研究代表者

近藤 真啓 (KONDO, Masahiro)

日本大学・歯学部・講師

研究者番号：50312294

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：各種の外界情報は感覚受容器を介して特定の神経回路を活性化させ、個体に感覚の認知(ex 味覚)および合目的な行動(ex 摂食行動)を誘導する。本研究では、味覚情報伝達への関与が推定されるニューロン(中枢神経系の責任領域)をERK(MAPキナーゼ)のリン酸化を指標に可視化し、甘味および苦味刺激では異なるニューロン群が興奮することを明らかにした。また、脳内のドパミンニューロンを易興奮性にさせると、摂食行動が亢進することを見出した。

研究成果の概要(英文)：To visualize central neurons responsible for taste perception, we made transgenic animals expressing thermo-sensitive TRP ion channel (dTRPA) in taste cells. Heat stimulation of the sweet- and bitter-cells induced different patterns of ERK phosphorylation in the subesophageal ganglion. In addition, we tried to identify the neurons controlling feeding behavior using enhancer trap lines expressing sodium channel in a subset of neurons in the brain. We found that excitability of subset of dopaminergic neurons modulates the feeding behavior.

研究分野：神経生物学

キーワード：神経回路 化学感覚

## 1. 研究開始当初の背景

動物は広く一般に、甘味物質を嗜好し、苦味物質を忌避する摂食行動パターンを示す。研究開始当初、甘味受容体と苦味受容体は異なる味細胞で独立に発現すること、味質による摂食行動の相違は各味細胞の活動性に依存することなどが明らかにされていた。

我々は、野生型ハエに異なる濃度のスクロース溶液を与えると、濃度の高いスクロース溶液をより好んで摂食するのに対して、高濃度スクロース溶液に苦味物質を添加しておく、低い濃度のスクロース溶液を選択するようになることを見出していた。また、カリフォルニア大学の研究チームは、甘味物質でハエの唇弁を刺激した際に活動する吻伸展・摂食関連運動ニューロンが、甘味と苦味の混合刺激では活動しないことを明らかにしていた。これらの結果から、適切な食物の選択および摂食行動は中枢における味情報の統合処理により決定されることが示唆された。しかし、味覚の情報伝達に関わる神経回路（特に、二次ニューロン以降の高次ニューロンの局在）および複数の味覚情報の中枢処理機構についてはいまだ不明であった。

一方、哺乳類を用いた実験系において、各種の侵害刺激により Extracellular signal-regulated kinase (ERK) の活性化および転写因子 FOS 蛋白の発現が侵害受容ニューロンで誘導されることが報告されていた。さらに、c-fos 遺伝子のプロモーター領域を利用して、GFP 蛋白の発現を誘導させる生体内細胞標識ツールの開発が進み、応用を目前に控えていた。

## 2. 研究の目的

活動したニューロン（神経回路）を可視化するツールの検索・開発をおこない、特定の味質情報を伝える神経回路（特に、二次ニューロン以降の高次ニューロン）を同定すると

ともに、複数の味質情報の入力摂食行動を制御する神経機構（責任ニューロン群の同定）について解明することを目的とした。

## 3. 研究の方法

1) 細胞可視化ツールの検索・開発、および（異なるモダリティの）感覚情報を伝達する高次ニューロン群の同定

(1) ラットの顎臼歯間部に矯正用エラストックを挿入し、歯根膜に側方圧（機械的）刺激を与えた後、経時的に延髄を摘出し、ERK のリン酸化状態および FOS の発現変動について、免疫組織学的手法を用いて解析をおこなった。

(2) UAS-GAL4 システムを用いて、ショウジョウバエの甘味または苦味受容細胞で特異的に温度感受性 Trp チャネル (dTrpA1) を異所性に発現させたトランスジェニック動物を作製し、30 の温熱刺激を 15~30 分間おこなった後、経時的に脳を摘出して ERK のリン酸化状態および FOS の発現を免疫組織化学的に解析した。

(3) ニューロン特異的ドライバー (elav-Gal4) で dTrpA1 を異所性発現させたトランスジェニック動物に温熱刺激を与えた後、脳を摘出して（温熱刺激なしの脳が対照群）、マイクロアレイにより神経活動依存的に発現が誘導される遺伝子群を検索した（現在、解析進行中）。

2) 摂食行動に関わるニューロン群の検索

各種のエンハンサートラップラインを用いて、中枢神経系の一部のニューロンで特異的に神経活動性の変調（ナトリウムチャネルを過剰発現）または神経回路異常（細胞接着分子を過剰発現または発現抑制）を誘導させたトランスジェニック動物を作製し、一晩、絶食させた後に生じる各種味溶液に対する摂食量の変化について、行動学的解析をおこなった。

#### 4. 研究成果

1) ラットの上顎臼歯間部に矯正用エラストイックを挿入して持続的な側方圧(機械)刺激を加えると、三叉神経脊髄路核尾側亜核のI/II層に存在するニューロンの一部で、一過性にExtracellular Signal-regulated Kinase (ERK)のリン酸化が誘導され、また、同一細胞においてFOS蛋白の発現が観察された。さらに、これらのニューロンの少なくとも一部は、neurokinin-1 (NK1)受容体を発現していたことから、ERKの活性化およびFOS発現が誘導されたのは侵害情報の伝達に関わるニューロン群であることが明らかになった。一方、FOS蛋白の発現量はMEK阻害剤の前投与により有意に減少したことから、機械的刺激により生じるFOSの発現誘導は、MAPキナーゼシグナル伝達経路を介して制御されていることが明らかになった。以上の結果から、ERKの活性化およびFOSの発現(または、このシグナル伝達経路)が、味覚神経回路の可視化に利用できる可能性が示唆された。

2) 甘味または苦味受容細胞で特異的にdTrpA1を異所性発現させたトランスジェニック動物に、30の温熱刺激を15~30分間加えたところ、食道下神経節(SOG)においてリン酸化ERK(pERK)陽性細胞が観察された。SOGは味受容細胞の軸索が投射する領域に相当し、また、ERK免疫活性の空間的パターンが興奮させた味細胞の種類により異なったことから、これらのニューロン群が高次ニューロンに属すると考えられた。一方、同一の刺激条件下において、FOS蛋白の発現を検出することはできなかった。

3) ドパミンニューロンで特異的にナトリウムチャンネルを過剰発現させた場合、5mMスクロース水溶液の摂取量が対照群と比較して有意に上昇した。一方、キニーネ混合スクロース溶液に対する摂食量は対照群と比較して有意な差は認められなかった。これらの

結果は、脳内ドパミンニューロンの易興奮性が摂食を正に調節している可能性を示唆している。

4) 成虫の化学感覚受容器および中枢神経系で発現する転写因子poxnのエンハンサートラップラインを用いて細胞接着分子Dscamの過剰発現をおこなったところ、楕円体ニューロンを始めとした中枢神経系ニューロン群において神経突起の伸長が阻害されることが明らかになった。現在、摂食行動に対する影響について解析をおこなっている。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計3件)

Tsuboi Y, Honda K, Bae YC, Shinoda M, Kondo M, Katagiri A, Echizenya S, Kamakura S, Lee J, Iwata K. Morphological and functional changes in regenerated primary afferent fibers following mental and inferior alveolar nerve transection. *Eur J Pain*. 2014. DOI:10.1002/ejp.650. 査読有

Hasegawa M, Kondo M, Suzuki I, Shimizu N, Sessle BJ, Iwata K. ERK is involved in tooth-pressure-induced Fos expression in Vc neurons. *J Dent Res*. 2012; 91(12): 1141-1146. DOI:10.1177/0022034512462397. 査読有

Miyamoto M, Tsuboi Y, Honda K, Kobayashi M, Takamiya K, Haganir RL, Kondo M, Shinoda M, Sessle BJ, Katagiri A, Kita D, Suzuki I, Oi Y, Iwata K. Involvement of AMPA receptor GluR2 and GluR3 trafficking in trigeminal spinal subnucleus caudalis and C1/C2 neurons in acute facial inflammatory pain. *PLoS One*. 2012; 7(8): e44055. DOI:10.1371/journal.pone.0044055. 査読有

[学会発表](計4件)

近藤真啓. 細胞接着分子Dscamの過剰発現により生じる感覚ニューロンの軸索投射異常. 第6回分子高次脳研究会, ホテル軽井沢1130(群馬県吾妻郡), 2013年9月17日

Shibuta K, Suzuki I, Kondo M, Iwata K. Extracellular signal-regulated kinase phosphorylation in trigeminal spinal nucleus and upper cervical spinal cord neurons induced by experimental tooth movement. 第 90 回日本生理学会大会, タワーホール船堀 (東京都江戸川区), 2013 年 3 月 28 日

Kondo M. Overexpression of Dscam leads to axonal targeting defects in the *Drosophila* sensory neurons. 第 35 回日本分子生物学会年会, マリンメッセ福岡 (福岡県福岡市), 2012 年 12 月 14 日

Kondo M. Neuronal Ig receptors control neural wiring specificity and feeding behavior in *Drosophila*. 10th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception (YR Umami Forum 2012), 九州大学馬出キャンパス コラボレーションセンター (福岡県福岡市), 2012 年 11 月 4 日

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
国内外の別 :

取得状況 (計 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
取得年月日 :  
国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

## 6 . 研究組織

(1)研究代表者

近藤 真啓 (KONDO, Masahiro)

日本大学・歯学部・講師

研究者番号 : 5 0 3 1 2 2 9 4

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

田村 拓也 (TAMURA, Takuya)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・助教

研究者番号 : 8 0 3 9 6 6 4 7