

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 19 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26850061

研究課題名(和文) 嗅覚による食欲調節機構の解明

研究課題名(英文) Olfactory sensitivities in fasted and fed mice

研究代表者

堀尾 奈央 (Horio, Nao)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・特任研究員

研究者番号：80726448

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：空腹時に食べ物の匂いを嗅ぐと匂いが強く感じ、食欲が増す、という現象が経験的に知られている。空腹・満腹という摂食状態の変化により匂い感受性が変化している可能性が考えられるが、哺乳類において、生理的な摂食状態変化での匂い感受性調節における嗅覚一次神経の役割は未だ明らかとなっていない。そこで、行動解析と、嗅覚一次神経のin vivo Ca2+イメージングを行った。その結果、ある匂いに関して、空腹マウスと満腹マウスで行動での検知閾値に差があるが、その差は嗅覚一次神経応答の差では説明できず、高次脳において匂い検知閾値を変えるシステムが存在する可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：From our experience, it is known that food odor increases our appetite when we are hungry. Olfactory sensitivities in fasted and fed state may be different, however little is known about the role of olfactory sensory neurons in the modulation of olfactory sensitivities by hunger state in mammals. Therefore we did the behavioral experiment and the olfactory bulb imaging which reflected activated odorant receptors in the olfactory sensory neurons. We revealed that olfactory sensitivities in fasted mice to some odor were significantly increased than those in fed mice and the threshold to the odorant in fasted mice and fed mice by olfactory imaging were similar. The olfactory sensitivities may be modulated not in olfactory sensory neurons but in higher brain.

研究分野：神経科学

キーワード：嗅覚

## 1. 研究開始当初の背景

食べたいという欲求である「食欲」は、正常な摂食行動を引き起こす上で重要である。近年、甘味が脳では快情動をもたらす刺激となり強い嗜好性をもたらすことが明らかとなり、味覚と「食欲」の関係が示された。一方、嗅覚と「食欲」の関係も経験的に知られている。空腹時においしそうな食べ物の匂いを嗅ぐと匂いが強く感じ「食欲」が増す。しかしその分子神経基盤は不明である。

近年、摂食直後に膵臓β細胞から分泌される摂食抑制ホルモン insulin の受容体がマウス嗅神経細胞にも発現し、嗅上皮において、ある種の匂い応答は insulin 存在下で抑制されることが示された (Lacroix et al., J Neuroendocrinol., 2008)。ハエにおいても insulin によってある種の匂い応答が抑制されることが知られている (Root et al., Cell, 2011)。

空腹・満腹という摂食状態の変化により生体は匂い感受性を変化させている可能性が考えられるが、哺乳類において、空腹・満腹という生理的な摂食状態変化での匂い感受性調節における嗅覚一次神経の役割は未だ明らかとなっていない。

## 2. 研究の目的

本研究では、マウスにおける、空腹・満腹状態での匂い感受性調節メカニズムの解明を目的とする。具体的には、行動解析により、空腹・満腹状態による匂い感受性の変化があるかを明らかにし、もし変化があったら、その匂い感受性変化が嗅覚一次神経の応答性の変化で説明できるかを明らかにする。嗅覚一次神経の応答性変化で説明できなかった場合は、高次脳での応答性変化で説明できるかを解析する。

申請当初は、空腹・満腹という摂食状態の変化による嗅覚感受性調節メカニズムと、嗅覚による食欲調節メカニズムの両方を解明する予定だったが、空腹・満腹状態での匂い感受性の違いの有無とそのメカニズムを明らかにすることがまずは大切だと考え、前者を解明することを優先させた。

## 3. 研究の方法

### (1) 空腹・満腹状態による匂い検知閾値の解析

マウスが、嗜好も忌避も示さない匂いを用いて、匂い検知閾値を測定する行動実験である順化・脱順化テストを行う。テストケージの中で自由に行動ができるマウスに、ミネラルオイルをつけたフィルターペーパーを3分間嗅がせる。3分後フィルターペーパーを取り出し、1分休憩後、同様にミネラルオイルをつけたフィルターペーパーをマウスに3分間提示する。1分休憩後同様に3分間嗅がせ、

ミネラルオイルの匂いに順化させる。フィルターペーパーにつけたミネラルオイルを嗅ぐ時間が1回目、2回目、3回目と次第に短くなったマウスを、匂いに順化したと考え、4回目の匂い提示を行う。4回目には、ミネラルオイルで希釈した匂い溶液をつけたフィルターペーパーを嗅がせる。4回目の匂いの探索時間は、マウスが匂いを感じていなかったら、3回目のミネラルオイルの探索時間よりも短くなり、マウスが匂いを感じていたら、3回目のミネラルオイルの探索時間よりも長くなる。4回目に嗅がせる匂い溶液の濃度を変えることにより、マウスが匂いを検知できる閾値を知る。マウスを空腹・満腹状態にし、この匂い検知閾値がマウス摂食状態によって変化するかを解析する。今回、空腹マウスとして一定時間絶食させたマウスを、満腹マウスとして自由に餌が食べられるマウスを用いる。

### (2) 嗅覚一次神経における匂い応答閾値の解析

嗅球における嗅覚一次神経での匂い応答を、匂いシグナルが伝達された際に起こる嗅神経末端(嗅球)での  $Ca^{2+}$ 濃度の上昇が可視化できる G-CaMP 発現マウスを用いた *in vivo*  $Ca^{2+}$ イメージング(嗅球イメージング)を行うことにより測定する。麻酔下の空腹・満腹マウスに、(1)で空腹・満腹マウスで検知閾値に違いのあった匂いを、オルファクトメーターを用いて一定の流量で嗅がせる。濃度を変えた匂い溶液を用い、嗅球イメージングでの空腹・満腹マウスの匂い応答閾値を解析する。応答閾値に差がなかった場合は、応答強度も解析する。

### (3) 摂食関連ホルモン投与後の匂い検知閾値の解析

過去に、高次脳に作用し、匂い応答を変化させる可能性が示唆されている、摂食に関連するホルモンを、生理的な濃度よりも高濃度で静脈内投与し、投与後マウス血液を経時的に採取する。代謝によりホルモン濃度は経時的に低下すると考えられるため、ELISA法により血中ホルモン濃度を測定し、順化・脱順化テストにおける4回目の匂い提示時に血中ホルモン濃度が生理的な濃度になるような投与濃度を明らかにする。その後、その濃度のホルモン投与後の空腹・満腹マウスにおける匂い検知閾値の変化を(1)と同様に順化・脱順化テストを行い解析する。テストには(1)で、空腹・満腹マウスで違いのあった匂いを用いる。

## 4. 研究成果

### (1) 空腹・満腹状態による匂い検知閾値の解析

順化・脱順化テストを行った結果、マウスが嗜好も忌避も示さない匂いに対し、空腹マ

ウスのほうが満腹マウスよりも匂い検知閾値が低いことが明らかになった。

### (2) 嗅覚一次神経における匂い応答閾値の解析

空腹・満腹マウスにおける匂い検知閾値の差が、嗅覚一次神経の応答性の変化で説明できるかを明らかにするため、嗅球イメージングを行った。行動で差があった匂いに対する、嗅球イメージングでの応答閾値と応答強度は、ともに、空腹・満腹マウスで差がなかった。よって、行動の差は、嗅覚一次神経応答の差では説明できない可能性が示唆された。ただし、今回用いた嗅球イメージングの実験系が空腹・満腹マウスの応答性の差を見るのに適していない可能性は否定できない。今後嗅上皮での電気応答測定系である嗅電図(EOG)を行い、同様の結果が得られれば、空腹マウスの方が満腹マウスよりも検知閾値が低い結果をさらに裏付けられる。

### (3) 摂食関連ホルモン投与後の匂い検知閾値の解析

これまでの結果により、行動の差が嗅覚一次神経の応答性の差で説明できない可能性が示唆された。そこで、行動の差が、高次脳での応答性の差で説明できるかを解析するため、過去に高次脳に作用し匂い応答を変化させる可能性が示唆されているホルモンを静脈内投与し、血中ホルモン濃度測定を行った。その結果、順化・脱順化テストでの匂い提示時に生理的な濃度になるホルモン投与濃度を明らかにした。その濃度のホルモンを用いて(1)と同様に順化・脱順化テストを行った結果、ホルモン投与によって匂い検知閾値が変化する可能性が示唆された。

これらの結果より、今回用いた匂いに関しては、空腹マウスと満腹マウスで行動での検知閾値に差があるが、その差は嗅覚一次神経応答の差では説明できず、高次脳において匂い検知閾値を変えるシステムが存在する可能性が考えられた。マウスにおける生理的な空腹・満腹状態での匂い応答測定は過去に報告が少ないため、本研究の成果は、空腹・満腹状態における匂い感受性調節メカニズムを全面的に解明するための基礎データとして、学術的意義が高いと考えられる。今後、高次脳におけるホルモンの作用メカニズムを解明することが期待される。

## 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1件)

1. Narumi Sato-Akuhara, Nao Horio, Aya Kato-Namba, Keiichi Yoshikawa,

Yoshihito Niimura, Sayoko Ihara, Mika Shirasu, and Kazushige Touhara, "Ligand specificity and evolution of mammalian musk odor receptors: the effect of single receptor deletion on odor detection" 査読有, 36, 2016, 4482-4491. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3259-15.2016.

〔学会発表〕(計5件)

1. Nao Horio, Keiichi Yoshikawa, Yoshihiro Yoshihara, Kazushige Touhara, "Effects of single olfactory receptor deletion on odor preference" 17th International Symposium on Olfaction and Taste (ISOT2016), 2016.06.05-09, Pacifico Yokohama (Kanagawa・Yokohama)
2. 藤田 怜, 堀尾奈央, 東原和成, "食品の複合臭とイミテーションフレーバーに対するマウス嗅球応答パターンとヒト官能評価との比較" 日本農芸化学会 2016 年度大会, 2016.03.27-30, 札幌コンベンションセンター (北海道・札幌)
3. Nao Horio, Kazushige Touhara, "Effects of olfactory receptor deletion on odor preference in mice" The 13th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception, 2015.11.03-04, Kyushu University (Fukuoka・Fukuoka)
4. 堀尾奈央, "満腹・空腹マウスにおける匂い感受性変化メカニズムの解析" Chemosensation & Behavior Workshop 2014, 2014.10.24-26, 箱根小涌谷ヴィラ箱根 80 (神奈川・箱根)
5. 加藤(難波) 綾, 堀尾奈央, 新村芳人, 吉川敬一, 齋藤菜穂子, 中村純二, 東原和成, "ヒト官能評価とマウス嗅球応答を指標にした嗅覚受容体アンタゴニストによる悪臭抑制の評価" 第48回味と匂学会, 2014.10.02-04, 静岡市清水文化会館 (静岡・静岡)

〔図書〕(計1件)

1. Nao Horio, Kazushige Touhara, 医歯薬出版, 医学のあゆみ, 2015, 503-407

〔産業財産権〕

出願状況(計0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0件）

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

〔その他〕

研究室ホームページ  
<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/biological-chemistry/>

学会誌寄稿  
堀尾奈央, “食と運動と健康”, 日本生理学会  
雑誌, 2014, 182-183

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

堀尾 奈央 (Horio Nao)  
東京大学・大学院農学生命科学研究科・  
特任研究員  
研究者番号：80726448

### (2) 研究分担者

なし ( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

なし ( )

研究者番号：

### (4) 研究協力者

なし ( )