

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26290006

研究課題名(和文) 大脳皮質カラム間及び異領野間の周期的同期化機構の解明

研究課題名(英文) Cellular and network mechanisms for the oscillatory synchronization between adjacent columns/areas

研究代表者

姜 英男 (KANG, Youngnam)

鹿児島大学・医歯学総合研究科・客員研究員

研究者番号：50177755

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,900,000円

研究成果の概要(和文)：錐体細胞に発現するCB1受容体の活性化により島皮質味覚野にリズムの同期化活動が生じ、それが尾側の島皮質胃腸関連自律領野に周期的に伝播すること、また、そうした活動はGPR119受容体の活性化により阻害され、CB1受容体とGPR119活性化の相反作用は、cAMP産生の抑制及び促進により担われていた。また、味覚野の興奮は、GABA受容体を介するフィードフォワード抑制を胃腸関連領野に引き起こした。さらに、両領野の接合部を切断すると、それぞれ独立に5 Hzと1-3 Hzのoscillationが生じ、フィードバックがなかった。これらは、胃腸の状態とは無関係に、美味が食欲を亢進させる可能性を示唆する。

研究成果の概要(英文)：Activation of CB1R by AEA in pyramidal cells in the gustatory insular (Gu-I) cortex caused oscillatory synchronization at theta rhythm, which subsequently propagated into the adjacent gastrointestinal insular (GI-I) cortex. This propagating oscillatory synchronization at theta rhythm was abolished by co-application of GPR119 agonist, and the opposing action between CB1R and GPR119 was found to be mediated by the downregulation and upregulation of cAMP. Prior to the propagation of theta rhythm oscillatory synchronization from Gu-I into GI-I, GABA(B)-mediated feedforward inhibition was caused. A microcut between Gu-I and GI-I revealed the independent oscillations at theta and delta rhythms, respectively, in Gu-I and GI-I, disclosing no feedback from GI-I to Gu-I. These observations suggest that the recognition of umami or sweet taste facilitates the feeding behavior, regardless of hunger or satiety condition.

研究分野：神経生理学

キーワード：Insular cortex CB1 receptor GPR119 PPARalpha Oscillation Synchronization

### 1. 研究開始当初の背景

大脳皮質の各領野は明確な機能局在を示し、視覚野(Hubel & Wiesel, 1972)・体性感覚野(Mountcastle, 1997)・運動野(Asanuma & Rosen, 1972)等において、機能カラムが存在することは確立されているが、機能カラムを構成する局所回路は異なる可能性がある。げっ歯類のバレル野は、ヒゲ一本ずつの体部位局在が明確なため、カラム構造が極めて明確であるが、味覚野は、味覚認知に空間情報が含まれる必然性が低く、体部位局在が明確でなく(Yamamoto 1987)、カラム構造も不明確であると想定されていた。申請者は、これまで、機能カラムを構成する局所回路の、バレル野と味覚野間での差異の有無を明らかにするため、膜電位測光法を用いた実験を行ってきた。スライス標本において、バレル野第4層に電気刺激を与えると、既に報告されていたように(Petersen & Sakmann, 2001)、興奮が第2/3層に垂直伝播した後、両隣接カラムに波及する水平伝播が見られた。一方、味覚野島皮質では、第4層で引き起こされた興奮は、上下両方向へ伝播する縦長のカラム様パターンを示し、味覚野においても機能カラムが存在することが示唆された。また、このような興奮伝播パターンの差異は、GABA<sub>A</sub>受容体遮断薬の投与により、さらに顕著になった。申請者はこうした所見に基づいて、カラム内およびカラム間局所回路が領野特異的である可能性を報告した(Sato et al., *J. Neurosci.*, 2008)。

対象物の視覚認知機構は、binding problemとしてよく知られている。視覚野の機能カラム内のニューロン群がリズム(20-70 Hz)の周期的活動を示し、そうした神経活動が異なるカラム間でもリズムで同期化した時、一つの対象物の各部位(或いは各要素)の関連付けが起こり、その結果、統合された一つの対象物としての視覚認知が生じると考えられている(Singer, 2001)。バレル野では、ヒゲ刺激によりカラム内の少数の神経細胞集団が活性化され、それらが5 Hz以下の低い発火頻度で同期化するsparse temporal codingが顆粒上層で生じると報告されている(Jadhav et al., 2009)。この周期的同期化は、スライス標本における細胞外フィールド電位記録法によっても観察されており、バレル野の顆粒上層で1-5 Hzのoscillation及び顆粒下層で8-12 Hzのoscillationが、それぞれ、カイニン酸及びNMDAの投与により生じることが報告されている(Flint & Connors, 1996)。同様の周期的活動は、視覚刺激に対するラット視覚野単一ニューロンの膜電位応答においても観察されている(第2/3層:  $\approx$  2 Hz, 第5層: 10-15 Hz; Sun & Dan, 2009)。ラットは複数のヒゲにより空間認知を行うことから、視覚野と同様に、隣接カラム間でも神経活動の周期的同期化が生じると考えられる。しかし、これまでの報告では、視覚野も含めてどのような神経回路機構によりカラム間での周期的同期

化が生成されるかについては明らかにされていない。

一方、認知・行動・情動などの高次脳機能は、一次皮質と高次連合野皮質或いは皮質下脳との間等の異なる階層間の機能協関の結果生じるものと考えられている(Buzsáki & Draguhn, 2004)。そうした機能協関も、異なる階層に存在する神経細胞群間での神経活動の周期的同期化、即ち、coherenceに依存してもたらされることが、複数の細胞外電位記録や脳波を用いて示されてきた。申請者は、膜電位測光法を用いて、島皮質味覚野とその尾側に隣接する自律機能関連領野間(心臓血管領域まで含む)での神経活動が、TRPV1受容体の活性化により、リズム(4 Hzと8 Hz)で同期化することを初めて可視化して示した。そして、得られた光学信号のcross-power spectrum(phase shift, coherence等)の解析により同期化の時空間パターンを詳細に解明した(Saito et al., *J. Neurosci.*, 2012)。

胃腸自律領野の神経活動は空腹時に増加し、満腹時に低下する。また、味覚刺激にตอบสนองする味覚野の神経活動は、空腹時に増強され、満腹時には抑制される。さらに、味覚野における「うま味」や「甘味」の認知により、食欲亢進が引き起こされる一方、味覚機能の低下は、食欲低下に繋がること等が知られている。このような背景を踏まえると、味覚野における「うま味」や「甘味」の認知により、胃腸自律領野の神経活動が空腹か満腹かには関わらず増加し、食欲亢進が生じるものと考えられる。従って、隣接して存在する味覚野と胃腸自律領野の神経活動が協調する可能性が考えられるが、どのような神経活動の協調が生じるのかについては不明である。

### 2. 研究の目的

島皮質の不全顆粒島皮質である味覚野と顆粒島皮質である胃腸自律領野の神経活動が、カンナビノイドCB1受容体を活性化した時に、協調した活動が周期的に生じるか否かを調べる。それが見られた場合には、どのようなパターンの周期的同期化が生じるかを調べ、そうした周期的同期化の基盤となる神経回路機構の解明をおこなう。

### 3. 研究の方法

ラット不全顆粒島皮質味覚野と尾側の顆粒島皮質胃腸関連領域を同時に含む水平断スライス標本において(図1A)、AEA投与により、両皮質領野間のsynchronous oscillationが誘引されるかどうかを膜電位測光法を用いて調べ、synchronous oscillationを担う神経回路機構をパッチクランプ法等を用いて、神経生理学的および薬理的に明らかにする。また、全動物標本を用いて、実際に食餌摂取時に、そうした周期的同期化が両領野間で生じるかどうかを調べ、その高次脳機能を明らかにする。

#### 4. 研究成果

錐体細胞に発現する CB1 受容体の活性化により島皮質味覚野の錐体細胞集団にリズムの同期化活動が生じ、それが尾側の島皮質胃腸関連自律領野に周期的に伝播すること(図 1 B, C)、また、そうした活動は GPR119 受容体の活性化により阻害されることを発見し、CB1 受容体と GPR119 活性化の相反作用は、cAMP 産生の抑制及び促進により担われていることも明らかにした(図 2 A, B)。また、味覚野内にて生じたリズムの周期的同期化が、胃腸関連領野に伝播するのに先行して、GABA<sub>B</sub> 受容体を介するフィードフォワード抑制が胃腸関連領野に生じることが観察された(図 1 D)。さらに、胃腸関連領野の興奮が味覚野に何らかのフィードバックを与えている可能性や、そのフィードバックにより島皮質味覚野に次の周期の興奮が引き起こされているか否かを検証するため、島皮質味覚野と胃腸関連領野の接合部付近を第 1 層から第 6 層まで切断したスライス標本作製し(図 3 A)、AEA を投与して、oscillation を観察した。その結果、味覚野では 5 Hz、胃腸関連領野では 1–3 Hz の oscillation が、それぞれ独立に観察されたが(図 3 B, C)、弱い coherence が認められた(図 3 D)。この coherence の存在は、皮質間連絡だけではなく、島皮質下の前障を経由する連絡の存在を示唆した。これらの結果から、リズムの生成部位は味覚野であることが確定し、フィードバック効果も顕著ではないことが明らかになった。さらに、胃腸関連領野の神経活動は、島皮質味覚野との皮質-皮質間連絡が断たれると、AEA 投与によりリズムが生成されることが明らかとなり、胃腸関連領野のみがと異なるリズムで活動し得ることが示された。このリズムの切り替えがどのような機能的意味をもつのかは、全動物標本を用いた実験において明らかにせねばならない。当初の計画では、それらの役割を明確にするため、GPR119 KO マウスを用いて実験を行うことを計画し、そうしたマウスから得られたスライス標本での *in vitro* 実験も計画していた。それは、GPR119 KO マウスでは、AEA の投与なしに、島皮質味覚野と胃腸関連領野間の周期的同期化が生じている可能性があり、そのリズムがからへの切り替わることも観察できることが期待されたからである。しかしながら、GPR119 KO マウス (Yang et al., 2016) がウイルス性肝炎を容易に発生する素因をもつことが判明し、対照群との比較が困難となり計画を断念せざるを得なかった。GPR119 KO マウスは、免疫系に何らかの異常をきたしている可能性が示唆された。

#### < 引用文献 >

Asanuma H, Rosén I. Topographical organization

- of cortical efferent zones projecting to distal forelimb muscles in the monkey. *Experimental Brain Research*, 14: 243–256, 1972.
- Buzsáki G, Draguhn A. Neuronal oscillations in cortical networks. *Science*, 304: 1926–1929, 2004.
- Flint AC, Connors BW. Two types of network oscillations in neocortex mediated by distinct glutamate receptor subtypes and neuronal populations. *Journal of Neurophysiology*, 75: 951–957, 1996.
- Hubel DH, Wiesel TN. Laminar and columnar distribution of geniculo-cortical fibers in the macaque monkey. *Journal of Comparative Neurology*, 146: 421–450, 1972.
- Jadhav SP, Wolfe J, Feldman DE. Sparse temporal coding of elementary tactile features during active whisker sensation. *Nature Neuroscience*, 12:792–800, 2009.
- Mountcastle VB. The columnar organization of the neocortex. *Brain*, 120: 701–722, 1997.
- Petersen CC, Sakmann B. Functionally independent columns of rat somatosensory barrel cortex revealed with voltage-sensitive dye imaging. *The Journal of Neuroscience*, 21: 8435–8446, 2001.
- Saito M, Toyoda H, Kawakami S, Sato H, Bae YC, Kang Y. Capsaicin induces theta-band synchronization between gustatory and autonomic insular cortices. *The Journal of Neuroscience*, 32: 13470–13487, 2012.
- Sato H, Shimanuki Y, Saito M, Toyoda H, Nokubi T, Maeda Y, Yamamoto T, Kang Y. Differential columnar processing in local circuits of barrel and insular cortices. *The Journal of Neuroscience*, 28: 3076–3089, 2008.
- Singer W. Consciousness and the binding problem. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 929: 123–146, 2001.
- Sun W, Dan Y. Layer-specific network oscillation and spatiotemporal receptive field in the visual cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106: 17986–17991, 2009.
- Yamamoto T. Cortical organization in gustatory perception. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 510: 49–54, 1987.
- Yang JW, Kim HS, Im JH, Kim JW, Jun DW, Lim SC, Lee K, Choi JM, Kim SK, Kang KW. GPR119: a promising target for nonalcoholic fatty liver disease. *FASEB Journal*, 30: 324–335, 2016.

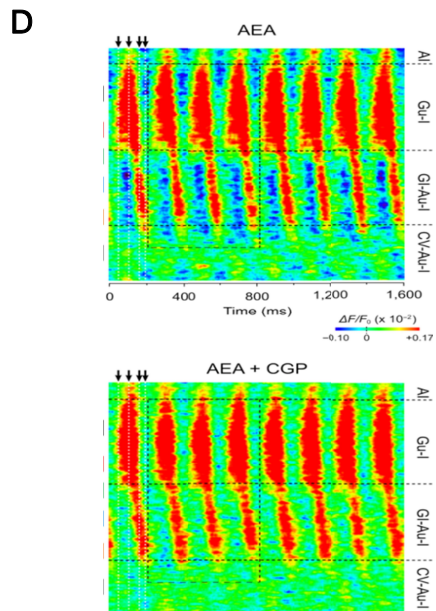
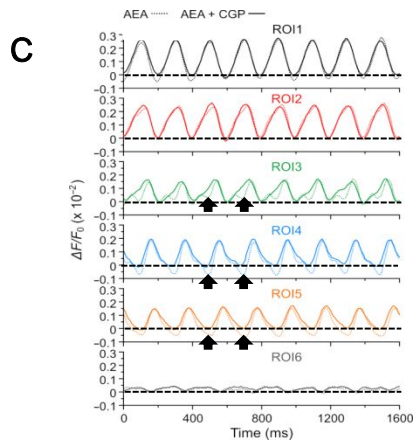
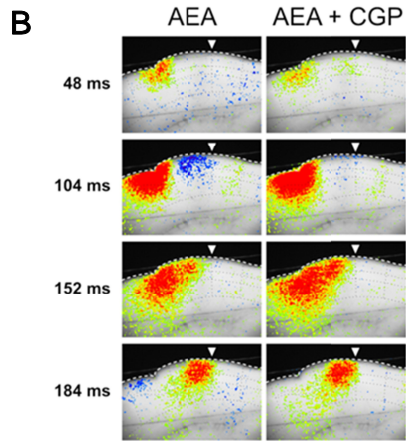
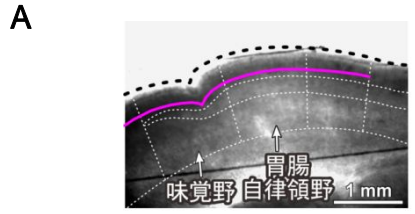


Figure 1

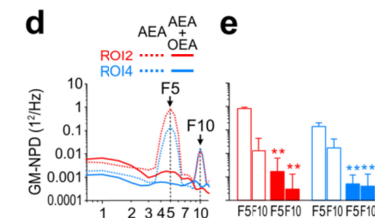
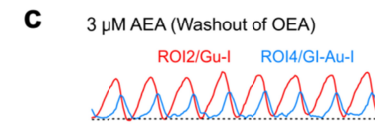
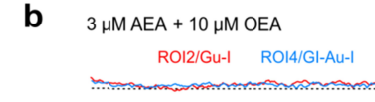
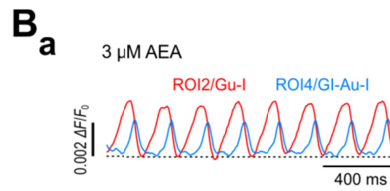
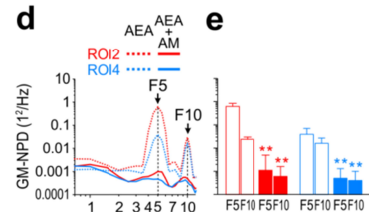
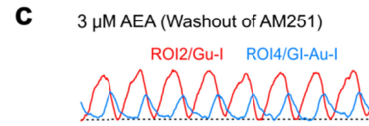
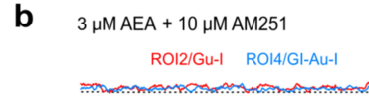
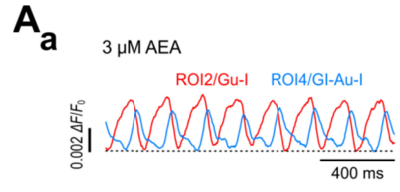


Figure 2

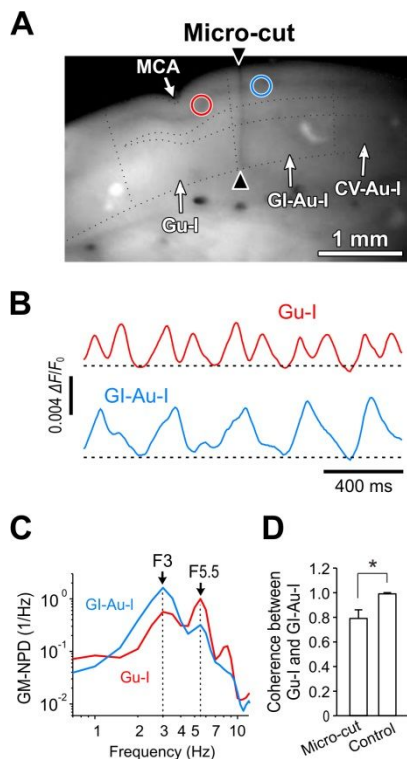


図 3

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 11 件)

- (1) Kawasaki Y, Saito M, Won J, Bae JY, Sato H, Toyoda H, Kuramoto E, Kogo M, Tanaka T, Kaneko T, Oh SB, Bae YC, Kang Y. Inhibition of GluR Current in Microvilli of Sensory Neurons via  $\text{Na}^+$ -Microdomain Coupling Among GluR, HCN Channel, and  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  Pump. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 12: 113, 2018. [査読有り]  
DOI: 10.3389/fncel.2018.00113
- (2) Nishimura K, Ohta M, Saito M, Morita-Isogai Y, Sato H, Kuramoto E, Yin DX, Maeda Y, Kaneko T, Yamashiro T, Takada K, Oh SB, Toyoda H, Kang Y. Electrophysiological and Morphological Properties of  $\alpha$  and  $\gamma$  Motoneurons in the Rat Trigeminal Motor Nucleus. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 12: 9, 2018. [査読有り]  
DOI: 10.3389/fncel.2018.00009
- (3) Morita-Isogai Y, Sato H, Saito M, Kuramoto E, Yin DX, Kaneko T, Yamashiro T, Takada K, Oh SB, Toyoda H, Kang Y. A distinct functional distribution of  $\alpha$  and  $\gamma$  motoneurons in the rat trigeminal motor nucleus. *Brain Structure and Function*, 222: 3231–3239, 2017. [査読有り]  
DOI: 10.1007/s00429-017-1400-8
- (4) 姜 英男, 豊田 博紀. 美味によって引き起こされる摂食行動の脳メカニズム ~ 島皮質味覚野と胃腸感覚領野間の神経協調活動により生じる空腹感. *化学と生物*, 55: 483-489, 2017. [査読有り]

- (5) Kang Y, Sato H, Saito M, Yin DX, Park SK, Oh SB, Bae YC, Toyoda H. A role of CB1R in inducing  $\theta$ -rhythm coordination between the gustatory and gastrointestinal insula. *Scientific Reports*, 6: 32529, 2016. [査読有り]  
DOI: 10.1038/srep32529
- (6) Okamoto K, Emura N, Sato H, Fukatsu Y, Saito M, Tanaka C, Morita Y, Nishimura K, Kuramoto E, Yin DX, Furutani K, Okazawa M, Kurachi Y, Kaneko T, Maeda Y, Yamashiro T, Takada K, Toyoda H, Kang Y. The Possible Role of TASK Channels in Rank-Ordered Recruitment of Motoneurons in the Dorsolateral Part of the Trigeminal Motor Nucleus. *eNeuro*, 3(3), 2016. [査読有り]  
DOI: 10.1523/ENEURO.0138-16.2016
- (7) Kawakami S, Sato H, Sasaki AT, Tanabe HC, Yoshida Y, Saito M, Toyoda H, Sadato N, Kang Y. The Brain Mechanisms Underlying the Perception of Pungent Taste of Capsaicin and the Subsequent Autonomic Responses. *Frontiers in Human Neuroscience*, 9: 720, 2016. [査読有り]  
DOI: 10.3389/fnhum.2015.00720
- (8) Chung G, Saito M, Kawasaki Y, Kawano T, Yin D, Lee S, Kogo M, Takada M, Bae YC, Kim JS, Oh SB, Kang Y. Generation of resonance-dependent oscillation by mGluR-I activation switches single spiking to bursting in mesencephalic trigeminal sensory neurons. *European Journal of Neuroscience*, 41: 998–1012, 2015. [査読有り]  
DOI: 10.1111/ejn.12858
- (9) Toyoda H, Saito M, Sato H, Kawano T, Kawakami S, Yatani H, Kanematsu T, Hirata M, Kang Y. Enhanced lateral inhibition in the barrel cortex by deletion of phospholipase C-related catalytically inactive protein-1/2 in mice. *Pflügers Archiv – European Journal of Physiology*, 467: 1445–1456, 2015. [査読有り]  
DOI: 10.1007/s00424-014-1592-1
- (10) Toyoda H, Saito M, Sato H, Tanaka T, Yatani H, Kawano T, Kanematsu T, Hirata M, Kang Y. Enhanced desensitization followed by unusual resensitization in GABA<sub>A</sub> receptors in phospholipase C-related catalytically inactive protein-1/2 double-knockout mice. *Pflügers Archiv – European Journal of Physiology*, 467: 267–284, 2015. [査読有り]  
DOI: 10.1007/s00424-014-1511-5
- (11) Sato H, Kawano T, Saito M, Toyoda H, Maeda Y, Türker KS, Kang Y. Teeth clenching reduces arm abduction force. *Experimental Brain Research*, 232: 2281–2291, 2014. [査読有り]  
DOI: 10.1007/s00221-014-3919-8

[学会発表] (計 12 件)

- (1) Kang Y  
A role of CB1R in inducing  $\theta$ -rhythm coordination between the gustatory and

- gastrointestinal insula. FENS Regional meeting (Pecs, Hungary), September 20-23th, 2017.
- (2) Toyoda H, Sato H, Yin DX, Kang Y. Anandamide induces network oscillations between the gustatory and gastrointestinal insular cortices. *The 94th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan*, March 28th, 2017 (Hamamatsu).
- (3) 豊田 博紀, 佐藤 元, 齋藤 充, 姜 英男. 健康長寿社会実現を目指す口腔ブレインサイエンスの最前線 島皮質オシレーションと味覚・摂食機能連関. 第58回歯科基礎医学学会学術大会, 2016年8月24日(札幌市).
- (4) Kang Y, Toyoda H, Saito M, Sato H, Kawano T. Oscillation and synchronization of neuronal activity in the insular cortex implicated in the feeding behavior. *The Joint Meeting of the 120th Annual Meeting of The Japanese Association of Anatomists and the 92nd Annual Meeting of The Physiological Society of Japan*, March 21st, 2015 (Kobe).
- (5) Toyoda H, Sato H, Saito M, Kawano T, Kang Y. The kainic acid-induced synchronous oscillation in the rat barrel cortex. *The Joint Meeting of the 120th Annual Meeting of The Japanese Association of Anatomists and the 92nd Annual Meeting of The Physiological Society of Japan*, March 21st, 2015 (Kobe).
- (6) Kang Y, Chung G, Saito M, Takada M, Bae YC, Kim JS, Oh SB. Enhancement of  $I_{NaP}$ -mediated resonance by mGluR-I activation induces burst firing in mesencephalic trigeminal sensory neurons, *The 44th Annual Meeting of the Society for Neuroscience*, November 18th, 2014 (Washington, USA).
- (7) Toyoda H, Saito M, Sato H, Kawano T, Kanematsu T, Hirata M, Kang Y. Enhancement of lateral inhibition in the mouse barrel cortex by deletion of phospholipase C-related catalytically inactive protein-1/2. *The 44th Annual Meeting of the Society for Neuroscience*, November 17th, 2014 (Washington, USA).
- (8) Kang Y, Sato H, Kawano T, Saito M, Toyoda H. Oscillation and synchronization of neuronal activity in the insular cortex implicated in the feeding behavior. *The 12th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception*, November 2nd, 2014 (Fukuoka). [招待講演]
- (9) 豊田 博紀, 佐藤 元, 齋藤 充, 河野 奨, 姜 英男. 大脳皮質体性感覚野バレル皮質領野におけるカラム間の周期的同期化機構. 第56回歯科基礎医学学会学術大会・サテライトシンポジウム, 2014年9月25日(福岡市).
- (10) Saito M, Tanaka C, Furutani K, Okazawa M,

- Toyoda H, Sato H, Kurachi Y, Kang Y. Modulation of TASK Currents by the Activity of cGMP-Dependent Protein Kinase. *The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society*, September 12th, 2014 (Yokohama).
- (11) Toyoda H, Hirao K, Emura N, Saito M, Sato H, Kawano T, Kang Y. Involvement of TASK channels in rank-ordered recruitment of masseter motoneurons. *The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society*, September 11th, 2014 (Yokohama).
- (12) Sato H, Toyoda H, Saito M, Kawano T, Kang Y. Involvement of GABA<sub>B</sub> Receptor-Mediated Presynaptic Inhibition in the Oscillatory Network Synchronization in the Rat Barrel Cortex. *The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society*, September 11th, 2014 (Yokohama).

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

姜 英男 (KANG, Youngnam)  
大阪大学・名誉教授  
鹿児島大学・医歯学総合研究科・客員研究員  
研究者番号: 5 0 1 7 7 7 5 5

### (2) 研究分担者

豊田 博紀 (TOYODA, Hiroki)  
大阪大学・大学院歯学研究科・准教授  
研究者番号: 0 0 4 3 2 4 5 1

佐藤 元 (SATO, Hajime)  
大阪大学・大学院歯学研究科・助教  
研究者番号: 1 0 4 3 2 4 5 2

齋藤 充 (SAITO, Mitsuru)  
鹿児島大学・医歯学総合研究科・教授  
研究者番号: 5 0 3 4 7 7 7 0