

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K21247

研究課題名(和文) 島皮質が及ぼす餌予測行動発現の重要出力回路

研究課題名(英文) Analysis of insular output pathway for food anticipation

研究代表者

楠本 郁恵 (KUSUMOTO, Ikue)

鹿児島大学・医歯学域医学系・助教

研究者番号：80724757

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、食欲を表出する神経メカニズムの一つに島皮質を介して行っ情報処理があるのではないかという点に関して検証することを目標とした。島皮質の神経活動を調節する神経領域、島皮質からの神経出力領域のどちらをターゲットとしても実験可能なオプトジェネティクス的手法を活用し、マウスの摂食行動にどのような影響を与えるかを調べる実験を行ったところ、視床下部から島皮質への入力的重要性を示唆するデータを得られた。

研究成果の概要(英文)：Food deprivation or natural hunger produce a drive to seek and consume food. Cortical regulation of this motivation remains poorly understood. We used optogenetics to characterize functional importance of anatomical connection to and/or from insular cortex in mice. Several hypothalamic areas are known for its function to modulate eating behavior. Among all those areas Orexin neurons which are mainly located in lateral part of the hypothalamus has been implicated in not only food intake but also motivational aspect of eating behavior. We thus examined appetitive effect of orexin input to the insular cortex.

研究分野：神経科学

キーワード：島皮質 摂食行動 食欲 神経回路

1. 研究開始当初の背景

「食べたい」という欲望は、それがあってもなさ過ぎても生命に影響する動物にとって欠かすことのできない情動である。昨今、西洋化された生活スタイルと、食産業の低価格化が相まって、人類は益々容易に食べ物を手に入れることができるようになっており、「食べたい」という欲望との今までにない戦いを強いられている。

さて、「食べたい」という欲望は、脳の中の神経回路によって形成されると考えられるが、その具体的な回路やメカニズムについてはまだ理解が乏しい。申請者は、これまでに、味覚や内臓感覚の情報を統合する脳領域である大脳皮質・島皮質に着目して、その食欲形成への関与について調べてきた。図1に、マウス島皮質の神経活動を薬理的に抑制した際の餌予測行動(パプロフ型学習によって、音と光を餌が与えられることに関連付けることにより、餌が与えられる(図中10sec)前から、関連付けられた予測信号(灰色背景の時間帯)に対して行動反応し、餌場にアプローチする回数が増える)が、抑制される様子を示す。そして、この餌予測行動の抑制は、オプトジェネティクス的手法を用いて、餌予測信号提示中のみ島皮質の神経活動を抑制した場合でも観察されたことから、島皮質内で行われている情報処理が、何らかの形で、餌を求める行動の表出にも関わっている可能性を示唆した(Kusumoto-Yoshida et al., 2015)。島皮質は、これまで多くの研究者が感覚皮質としての役割に着目した研究を行ってきており、特に味覚野としての生理的特性や機能については多く明らかにされてきた(de Araujo et al., 2012)。申請者の研究は、これまでの島皮質に関して築かれた知識に、新たな側面をもたらすものであり、島皮質が餌を求める行動、ひいては食欲、の表出に関与しているのであれば、その機能を果た

す神経回路の同定が必要不可欠である。

実際、島皮質の、「欲望」「渴望感」といった精神現象への関与を示唆する報告が近年相次いでいる。喫煙を続けていた患者が、島皮質を何らかの理由で失うことで、煙草に対する渴望感がなくなること(Naqvi et al., 2007)、ラットにおいて、依存性薬物の投与を受けられる場所への嗜好性が、島皮質神経活動の抑制をすることで消失すること(Contreras et al., 2007)、等の、島皮質と欲望、もしくはそれを示唆する行動表現との関与についての報告から、島皮質の神経活動自体の当行動表現に対する機能的意義、そして、島皮質の神経活動が、どのようにこのような機能を発揮できるようにしているのか、について更なる理解が求められている。

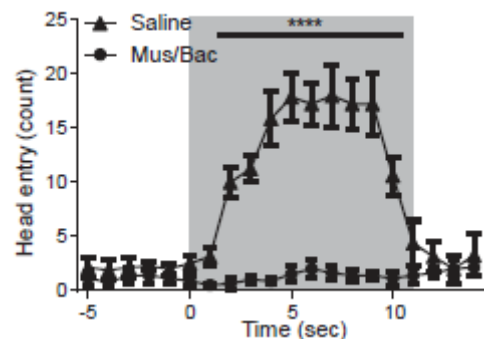


図1 マウスで観察された餌予測行動。島皮質への生理食塩水投与、島皮質へのムシモール・バクロフェン投与。島皮質神経活動抑制により、餌予測行動が見られなくなる。

2. 研究の目的

本研究では、島皮質が関与すると考えられる、食に対する欲望の神経回路メカニズムの解明を目標とした。我々がモデル行動として取り扱う餌予測行動の獲得と発現に、島皮質を介するどのような神経回路が関与しているのかを明らかにするための実験を行った。

3. 研究の方法

(1) 餌予測行動の発現に關与する島皮質領域の同定

我々がこれまでに示してきた餌予測行動への島皮質の關与は、主に、前後方向に長く伸びるマウス島皮質のうち中間部分の神経活動を抑制することで調べてきたが、餌の予測に關与する島皮質神経細胞が、島皮質全体に存在するのか、領域別に偏りがあるのかについては不明であった。そこで我々は、マウスに餌予測行動を起こさせ、その際に活性化した神経細胞の分布を島皮質内で観察することにした。活性化神経細胞を最初期遺伝子である c-fos の発現で観察できるようにするため、時間の単位で餌予測行動を起こす行動パラダイムを採用した。マウスは 12 時間ごとの明期暗期サイクルで飼育し、餌予測行動表出のために、摂食時間を 1 日 4 時間に制限した。その間、継続的に摂食量、行動量の記録を行い、マウスの様子を観察した。その後、灌流固定し脳を摘出し、40 μm の切片を作成した後、c-fos に対する抗体で免疫染色を行い島皮質を観察した。

(2) 摂食量を変化させる島皮質神経入力の探索

島皮質は、味覚野として知られている側面からも推測できるように、感覚入力が必要な入力源である。しかし、他の皮質領域を含む様々な脳領域との神経接続の重要性も忘れてはならない。我々は、摂食調節の研究でこれまでよく注目されてきた視床下部の細胞群に着目し、それらの島皮質に与える影響を検討した。視床下部には摂食促進効果が示唆されているいくつかの細胞群があるが、我々が今回注目したのは外側部にあるオレキシンニューロンである。オレキシンは、多様な

機能を持つ神経ペプチドであることが報告されているが、それらの機能の中には摂食促進も含まれる。オレキシンニューロン選択的に神経活動を操作するために、オプトジェネティクスの手法を用いた。我々の研究室での光刺激の実験系の確立と効果の確認のため、オレキシンニューロン細胞体光刺激の摂食量への影響と、本研究の目的でもある島皮質への影響を調べるためのオレキシン軸索光刺激の摂食量への影響の両方を調べた。

光刺激を行うために、マウス頭部の刺激部位に光ファイバーカニューラ（京セラ）を埋め込む手術を行った。光刺激の強度は、光ファイバーカニューラと接続するケーブルの先端の出力が 10mW になるように調節した。埋め込み前の光強度チェックにより、それぞれの光ファイバーカニューラを介することによる光強度のロスが 10% 以下であった。15msec の光パルスで 1 分間に 10 秒ずつ on する条件で光刺激を行った。

4. 研究成果

(1) 餌予測行動の発現に關与する島皮質領域の同定

餌予測行動時の活動神経細胞の島皮質内での分布を調べるため、c-fos タンパクの免疫染色を行った。本研究の目的のために新たに採用した餌予測行動は、これまでに報告が合った通り、1 日 4 時間に制限された摂食時間によって引き起こされた。約 2 週間の訓練期間を経て、摂食時間前のマウスの行動量が増加していることが我々のグループでも確認することができた。また、摂食時間前に行動量増加が見られた実験群では、コントロール群に比べ、島皮質中部で有意に c-fos 陽性細胞数が多い結果となった。島皮質前部、後部に関しても、実験群での c-fos 陽性細胞数の増加の傾向は見られており、更なる検証が必要であると考えられた。現在までに得られた

データより、餌予測行動中の島皮質中部の活動亢進が考えられ、今後、島皮質中部に特に着目した神経活動操作を行うことにより、島皮質が果たす食欲調節メカニズムに迫ることができると期待できる。

(2) 摂食量を変化させる島皮質神経入力の探索

島皮質に伸ばすオレキシンニューロンの軸索の餌摂取に対する影響を調べた。オプトジェネティクスは、光による刺激時間分解能のよさと遺伝学的発現調節による特定神経細胞への限局刺激を可能にする利点があるが、それに加えて、多種多様な投射先を持つ神経細胞のうち、特定の投射先での軸索末端のみを刺激することで、さらに限局した刺激を行うことができることも利点である。本研究では、オプトジェネティクスの利点を最大限活用するため、まず、島皮質に軸索を伸ばすオレキシンニューロンのみを刺激し、マウスの摂食量に与える影響を調べることが目標とした。この実験の成功のためには、まず、用いる遺伝子操作した動物で、オレキシンニューロン細胞体を光刺激することで、マウスの摂食行動に影響があることを確認した。さらに、島皮質に伸ばすオレキシンニューロンの軸索を光刺激することによっても、摂食量が増加する傾向が観察された。よって、島皮質の出力形成に与える視床下部入力の重要性が示唆された。

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)

Ueda H., Suga M., Yagi T.,
Kusumoto-Yoshida I., Kashiwadani H.,
Kuwaki T. and Miyawaki S.

Vagal afferent activation induces salivation and swallowing-like events in anesthetized rats

American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative, and Comparative Physiology. 311(5):R964-R970 (2016) (査読有)

〔学会発表〕(計 8 件)

「マウス摂食行動に対するオレキシン神経光刺激の効果」

山口蘭、桑木共之、楠本郁恵
第 67 回西日本生理学会 2016 年 10 月 8-9 日

「唾液分泌と嚥下の調節機構における内臓感覚の役割」

植田 紘貴、菅 真有、八木 孝和、楠本 郁恵、
柏谷 英樹、桑木 共之、宮脇 正一
第 67 回西日本生理学会 2016 年 10 月 8-9 日

Optogenetic stimulation of orexin neurons elicits feeding behavior in mice Ran Yamaguchi, Tomoyuki Kuwaki, Ikue Kusumoto-Yoshida
第 94 回日本生理学会大会 2017 年 3 月 28-30 日

Salivation and swallowing-like events are induced by vagal afferent activation in anesthetized rats Hiroataka Ueda, Mayu Suga, Takakazu Yagi, Ikue Kusumoto-Yoshida, Hideki Kashiwadani, Tomoyuki Kuwaki, Shouichi Miyawaki
第 94 回日本生理学会大会 2017 年 3 月 28-30 日

Stress-induced tachycardia is mediated by serotonergic neurons in the medullary raphe Yoko Ikoma, Ikue Kusumoto-Yoshida, Akihiro Yamanaka, Youichirou Ootsuka, Tomoyuki Kuwaki
第 94 回日本生理学会大会 2017 年 3 月 28-30 日

マウスにおける島皮質を介したオレキシン摂食促進機構
楠本-吉田郁恵、山口蘭、桑木共之
第 2 回食欲・食嗜好の分子・神経基盤研究会 2017 年 6 月 10,11 日

Stress-induced physiological responses are mediated by serotonergic neurons in the medullary raphe
Yoko Ikoma, Ikue Kusumoto, Akihiro Yamanaka, Youichirou Ootsuka, Tomoyuki Kuwaki
第 40 回日本神経科学大会 2017 年 7 月 20-23 日

A candidate neural circuit contributing

to Orexin-induced food intake
Ikue Kusumoto-Yoshida, Ran Yamaguchi,
Tomoyuki Kuwaki
第 40 回日本神経科学大会 2017 年 7 月
20-23 日

〔図書〕(計 1 件)

楠本-吉田郁恵

中枢と末梢を結びつける神経科学的ア
プローチー脳と体から「こころ」を探る
Annual Review 神経 2017, 262-268, (2017)

〔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〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

楠本 郁恵 (KUSUMOTO, Ikue)
鹿児島大学・医歯学域医学系・助教

研究者番号：80724757