

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：24302

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08546

研究課題名(和文)「摂食促進系」求心性迷走神経の確立、生理・薬理と食欲不振介入

研究課題名(英文) Establishing orexigenic vagal afferent subclass and its physiological and pharmacological roles for treating anorexia

研究代表者

岩崎 有作 (Iwasaki, Yusaku)

京都府立大学・生命環境科学研究科・教授

研究者番号：60528420

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：加齢やストレスによる「食欲不振」は栄養不良に伴うフレイル・サルコペニア・認知症の発症原因となる。しかし、未だ有効な食欲改善薬は開発されていない。本研究では、内臓感覚神経の1種「求心性神経」に対する香辛料成分の作用と摂食亢進作用について検証した。辛味受容体TRPA1に作用するニンニク成分のジアリルトリスルフィド(DATS)は、求心性迷走神経を介した脳作用により摂食量を亢進させた。DATSはストレス性食欲不振マウスやグレリン抵抗性マウス(食欲促進ホルモン作用が障害)に対して摂食量を増進させたことから、今後の新規摂食不振改善薬・食品の開発のためのさらなる基礎・応用研究への発展が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

求心性迷走神経の摂食調節作用においては、満腹感形成に関わることはこれまでの研究で分かっていたが、空腹感(食欲増進)の形成機序は不明な点が多かった。本研究で、TRPA1を発現する求心性迷走神経が食欲促進シグナルを中枢神経系へ伝達することを新たに見出し、自律神経科学・生理学分野の新知見である。加えて、食欲増進食品として香辛料を経験的に使用しているが、その科学的根拠を示す成果となった。

研究成果の概要(英文)：The hypophagia/anorexia exacerbates the health conditions, however, there is no effective therapeutic medicine to treat the eating disorder. This study demonstrated that diallyl trisulfide (DATS), which is one of characteristic ingredient and potent TRPA1 agonist in the garlic, increased food intake by interacting with TRPA1-expressing and novel subclass of vagal afferents with orexigenic role. Moreover, DATS enhanced food intake in hypophagic model mice (stress and aging). Therefore, DATS and/or the method of activation of TRPA1-expressing vagal afferents might be effective in treating hypophagia/anorexia and its related disorder.

研究分野：生理学

キーワード：食欲不振 求心性迷走神経 TRPA1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

食欲不振は、我が国をはじめとした超高齢化社会、ストレス社会の深刻な問題である。食べる事は生命活動の根源であり、食欲不振の改善は健康状態を回復させる。しかし、この食欲不振に対する有効な改善・治療法は未だ確立されていない。

内臓感覚神経の1種である「求心性迷走神経」は、末梢から脳への情報伝達の主要経路であり、満腹感形成に関わることがこれまでの研究で明らかにされてきた。食後の分泌される消化管ホルモン(コレシストキニン、グルカゴン様ペプチド1、ペプチドYYなど)、膵ホルモン(インスリン、膵ポリペプチド、グルカゴン)、下垂体ホルモン(オキシトシン)などが求心性迷走神経の一部サブクラスを活性化し、摂食量を低下させる。一方、摂食促進における求心性迷走神経の役割は未解明である。これまでに申請者は、空腹因子Xが食後分泌されるホルモンに反応しない新規求心性迷走神経サブクラスを活性化することを予備的に見出ししている。この新規求心性迷走神経サブクラスが「摂食促進系」求心性迷走神経サブクラスである可能性が考えられた。

香辛料や香辛野菜には摂食亢進作用があるとして日常的に我々の食生活の中で利用されている。しかし、その作用成分や作用機構など科学的に不明な点が多い。香辛料の辛味成分の多くが、感覚神経に発現する transient receptor potential A1 (TRPA1) のアゴニストであり、ワサビのアリルイソチオシアネート、シナモンのシナムアルデヒド、ニンニクのジアリルトリスルフィド(diallyl trisulfide, DATS)、ミョウガのミョウガジアルなどがある。TRPA1は体性感覚神経だけでなく、求心性迷走神経にも多く発現する。従って、香辛料成分中のTRPA1アゴニストが求心性迷走神経に発現するTRPA1の活性化を介して脳へと情報を伝達し、摂食量を亢進させているのかもしれない。この仮説が既に科学的に明らかであるのか文献を検索しても、TRPA1アゴニストの摂食行動に対する効果は報告が無い。

2. 研究の目的

本研究では、TRPA1を発現する求心性迷走神経サブクラスが「摂食促進系」神経であると仮説立てる。香辛料由来のTRPA1アゴニストを用いて、TRPA1アゴニストの求心性迷走神経を介した摂食亢進作用を検証した。また、TRPA1アゴニストが食欲不振の改善に有効であるか、食欲不振モデルマウスを用いて検証した。

3. 研究の方法

(1) 摂食行動解析

ICR 雄性マウスに試験サンプルを経口または腹腔内投与をし、その後の摂食量を測定した。

(2) 単一 nodose ganglion ニューロンを用いた細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) 測定法

Nodose ganglion (NG) は左右の頸静脈孔直下にそれぞれ存在し、求心性迷走神経の細胞体が集合する。マウスから NG を単離し、酵素処理により単一 NG ニューロンを調製し、一晚培養した。Fura-2 蛍光画像解析法を用いて細胞内 Ca^{2+} 濃度を測定した。

(3) Nodose ganglion でのリン酸化 ERK1/2 (pERK1/2) 発現解析

マウスに試験サンプルを投与し、15分後に心灌流固定し、免疫染色解析用の nodose ganglion を調製した。神経活性化マーカーである pERK1/2 の発現を免疫染色法にて解析した。

(4) 迷走神経機能障害モデルマウスの作成(迷走神経切断術、カプサイシン処理)

麻酔下にて、マウスの横隔膜下の両側迷走神経を切断した。術後は液体食にて飼育し、1週間の回復期間をとり、摂食実験に用いた。麻酔下マウスにカプサイシンを皮下に投与し、カプサイシン感受性感覚神経の除神経を行った。

4. 研究成果

(1) TRPA1 アゴニスト DATS の求心性迷走神経を介した摂食亢進作用

ニンニク中の TRPA1 アゴニストの DATS をマウスへそれぞれ経口投与すると、投与30分後から9時間後まで累積摂食量を亢進させた。

DATS の経口投与によって求心性迷走神経が活性化されているか、神経活性化マーカーの pERK1/2 を指標に組織化学的に定量した。DATS の経口投与は求心性迷走神経(nodose ganglion) の pERK1/2 陽性細胞数は有意に増加した。従って、DATS の経口投与によって求心性迷走神経を活性化していることが組織化学的に示された。

DATS が直接求心性迷走神経を活性化しているのかを検証するために、求心性迷走神経の単離ニューロンのカルシウムイメージング法にて評価した。単一 nodose ganglion ニューロンに DATS 溶液を添加すると強く $[Ca^{2+}]_i$ が上昇した。DATS に応答したニューロンはおよそ40%であった。DATS による $[Ca^{2+}]_i$ 上昇は、TRPA1 アンタゴニスト(HC-030031)によって強く抑制された。従って、DATS は求心性迷走神経に発現する TRPA1 に直接作用して神経を活性化させていることが示された。

DATS による摂食亢進作用が求心性迷走神経を介した経路で誘発されているかを検証するために、外科的及び化学的に求心性迷走神経を障害させたモデルマウスを用いて検証した。DATS 誘発摂食亢進作用は迷走神経切断マウス及びカプサイシン処理マウスで共に完全に消失した。

従って、TRPA1 アゴニストは求心性迷走神経を介して摂食量を亢進させることが明らかとなった。

(2) 食欲不振モデルマウスにおける DATS の摂食亢進作用の検討

本研究では、拘束ストレス性食欲不振マウス、加齢マウス、抗がん剤による食欲不振マウスの3つのモデルを用いて、DATS の摂食亢進作用を検証した。

暗期直前の2時間の拘束ストレスは、その後6時間まで摂食量を有意に低下させた。一方、DATS の経口投与は、拘束ストレス性食欲不振を改善し、ストレスを与えていない群と同レベルまで回復させた。従って、DATS の求心性迷走神経を介した摂食亢進作用は、拘束ストレス食欲不振に対して有効であることが分かった。

加齢による摂食不振の原因の1つとして、摂食亢進作用を有する胃ホルモンのグレリンの作用が障害される「グレリン抵抗性」が考えられている。2.5ヶ月齢のICRにグレリンを腹腔内投与すると摂食量が亢進した。しかし、10ヶ月齢のICRマウスにグレリンを腹腔内投与しても摂食量の亢進は全くみられず、グレリン抵抗性を発症していることが分かった。DATS の経口投与は、2.5ヶ月齢、10ヶ月齢、いずれのICRマウスにおいても摂食量を亢進させた。従って、DATS の求心性迷走神経を介した摂食亢進作用は、グレリン抵抗性を発症した動物においても有効であることが示された。

抗がん剤の一つであるシスプラチンの副作用として、重度の摂食不振が知られている。シスプラチンをICRマウスに腹腔内投与すると、投与直後から5日後まで有意に摂食量を低下させた。シスプラチン投与と同時にDATSを経口投与し、その後24時間までの摂食量を測定した。DATSはシスプラチンによる食欲不振を改善することができなかった。近年、シスプラチンによる食欲不振は、従来知られている視床下部による摂食調節でなく、延髄レベルでの新しい摂食調節機序であることが報告された。シスプラチン特有の延髄による食欲不振作用に対しては、DATSは改善効果を示さないことが分かった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yusaku Iwasaki, Mio Sendo, Takashi Hosono, Taiichiro Seki, Toshihiko Yada
2. 発表標題 DIALLYL TRISULFIDE, POTENT TRPA1 AGONIST DERIVED FROM GARLIC, INCREASES FOOD INTAKE VIA VAGAL AFFERENT NERVES.
3. 学会等名 2019 International Garlic Symposium (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩崎有作、仙度光麻、矢田俊彦
2. 発表標題 摂食亢進系「求心性迷走神経サブクラスによる摂食亢進作用
3. 学会等名 生理学研究所研究会 第3回食欲・食嗜好性の分子・神経基盤研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩崎有作、仙度光麻、細野崇、阿部雅子、関泰一郎、矢田俊彦
2. 発表標題 香辛料由来TRPA1アゴニストの経口摂取による求心性迷走神経活性化を介した摂食亢進作用
3. 学会等名 第72回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩崎有作、仙度光麻、細野崇、阿部雅子、関泰一郎、矢田俊彦
2. 発表標題 香辛料辛味成分TRPA1アゴニストの求心性迷走神経活性化を介した摂食亢進作用
3. 学会等名 第32回日本香辛料研究会（兵庫県）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 岩崎有作、仙度光麻、矢田俊彦
2. 発表標題 香辛料成分により活性化される求心性迷走神経新規サブグループと摂食亢進作用
3. 学会等名 自然科学研究機構 生理学研究所研究会 臓器相関による生体制御システムとその変容の仕組み（愛知県）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 仙度光麻、岩崎有作、細野崇、関泰一郎、矢田俊彦
2. 発表標題 香辛料辛味成分TRPA1アゴニストによる求心性迷走神経活性化と摂食亢進
3. 学会等名 第38回日本肥満学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 食欲不振改善用組成物	発明者 岩崎有作、矢田俊彦	権利者 学校法人自治医科大学
産業財産権の種類、番号 特許、大特18-11号	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----