

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：63801

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K14753

研究課題名（和文）味覚二次神経回路の解析を通じた、脳における選好判断の機構の解明

研究課題名（英文）Investigation into mechanisms of preference decision-making occurring in the brain through analyses of gustatory second-order neurons

研究代表者

宮崎 隆明 (Miyazaki, Takaaki)

国立遺伝学研究所・遺伝メカニズム研究系・特任研究員

研究者番号：00777807

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：ハエでは、味情報は味覚感覚神経細胞で口から脳に送られ、この細胞から情報を受け取る二次神経細胞が味を感じたときの行動を決めていると考えられる。研究代表者は以前、甘味に反応する味覚感覚神経細胞に接続する二次神経細胞を15タイプ同定していたが、これらの行動決定での役割は不明であった。研究代表者は本研究で、これらが甘味の情報を受け取る味覚二次神経細胞の全てをカバーすることを示唆する結果を得た。さらに、2タイプの味覚二次神経細胞について、他の細胞に影響を与えることなくその細胞だけを操作する遺伝学的手法を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

研究代表者が同定した神経細胞が甘味の情報を受け取る細胞の全てをカバーすることから、甘味による行動にはこれらのうちの何れかが関わることになる。味覚二次神経細胞だけを操作する手法を使えば、それらの細胞の味覚行動における役割を調べられる。これらのことから、本研究により、甘味の感知が様々な行動を惹き起こすまでの過程を調べることが、今後、可能になったと言える。

ハエの研究は、遺伝の法則、受精卵から動物の身体ができるまでの過程、体内時計など、動物に共通する現象の仕組みを明らかにしてきた。本研究と今後になされる研究も、人間を含む動物が甘味から「好き」に対応する行動を起こす仕組みの理解に貢献すると期待される。

研究成果の概要（英文）：In fruitfly, gustatory sensory neurons relay taste information from the mouth to the brain. 2nd-order neurons, which receive the taste information from the sensory neurons, are supposed to control behaviors occurring upon the taste sensation. I previously searched for 2nd-order neurons downstream of the sensory neurons that respond to stimuli of sweetness, and then successfully identified 15 types of such neurons. However, their roles in the behavioral control were still unclarified.

In this research, I obtained results that suggest the previously-identified 2nd-order neurons cover almost all populations of neurons that receive information of sweetness. In addition, for two of the 15 types of the gustatory 2nd-order neurons, I established a genetic method to manipulate only the 2nd-order neurons without side-effects on other neurons and cells.

研究分野：動物行動学

キーワード：味覚 好き・嫌い 神経回路 脳・神経系の情報処理 動物生理学 動物行動学 キイロショウジョウハエ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

- (1) 味覚系は、動物が感覚刺激に対する価値判断の仕組みにアプローチするのに大変優れた系である。これは、味覚刺激により惹き起こされる誘引・忌避行動は、視・嗅覚刺激によって起こる行動に比べ、学習による変化の度合いが小さいからである。このため、感覚情報に対してなされる処理と、実験的に観察可能な行動とを関連づけやすい。
- (2) この味覚系の特長は、動物が糖分などの生存に必要な物質をなるべく効率良く取り入れるために食物を選択する際に味覚系を用いているからである。キイロショウジョウバエ(以下、ハエ)は、糖分の濃度が異なる二種類の餌を提示すると、濃度が高い方を生得的に好む。この選好は、100 mM と 110 mM のショ糖を区別できるほど鋭敏である (Shimada et al, *Chem Senses*, 12:481-90, 1987)。
- (3) 哺乳類では、舌と延髄とを結ぶ神経は味物質濃度を発火頻度によって符号化していることが、齧歯類を用いた研究で見出され、味の情報処理の基本原理は広く動物に共通することが示唆されている。しかし、脊椎動物では中枢へ情報が伝達されるまでに何段階ものシナプス接続を経るので、この過程で味覚情報がどのように変換されるのかを解析するのは困難である。
- (4) 対して、ハエでは口にある味覚感覚神経細胞が脳まで直接投射するため、神経路をたどりやすい。ハエでも、これらの細胞の発火頻度は糖分の濃度に依存し、高濃度ほど高頻度になる (Ishimoto & Tanimura, *Cell Mol Life Sci*, 61:10-8, 2004)。一方、選好は、濃度が低い方ではそこを避ける、濃度が高い方ではそこに留まる、という行動によって実現する。これら二つの行動では、運動系の神経がそれぞれ特有のパターンで活動する。すなわち、選好のための判断は、絶対的な味濃度に依存した発火頻度から、相対的な濃度差に依存した活動パターンへの変換によって行われる。この変換は、味覚感覚神経細胞より下流で、かつ、運動系より上流の神経細胞からなる神経ネットワークで起きている。しかし、具体的にどの神経細胞がこのネットワークを構成するかは未同定であり、その機構についても明らかでなかった。
- (5) 研究代表者らは本研究開始までに、甘味に反応する味覚感覚神経細胞と接続する二次神経細胞を 15 タイプ同定していた (Miyazaki et al, *J Neurogenet*, 29:144-55, 2015)。この際、ある特定の種類の神経細胞で、外来性の転写活性化因子を発現させる分子遺伝学的手法を利用した。この手法を用いれば、異なる個体でも同じその細胞のみで転写活性化因子の認識配列の下流に組み込んだ任意の外来遺伝子を発現させることができる。そこで研究代表者は、(4)の情報変換を担っているのがこれらの二次神経細胞である、という仮説の下で、それを検証し、また個々の細胞の役割を調べる研究を行うことにした。

2. 研究の目的

- (1) 研究代表者らが既に同定していた味覚二次神経細胞が、甘味に反応する味覚感覚神経細胞と接続する二次神経細胞全体のうちどれだけの部分を占めるかを明らかにする。
- (2) 研究代表者らが以前に味覚二次神経細胞を同定した手法では、二次神経細胞だけでなく、他の神経細胞でも遺伝子発現が起こっていた。この余分な遺伝子発現は、蛍光蛋白質を発現させて神経細胞を可視化・同定するだけなら問題にならないが、神経機能を操作するような蛋白質を発現させたときの味覚行動の変化を通じてその神経細胞の機能を調べる場合には問題となる。そこで、当該の味覚二次神経細胞のみで遺伝子発現を起こせるようにする。
- (3) 既に同定されていた味覚二次神経細胞が、甘味によって惹き起こされる行動に関与しているかどうかを検証する。

3. 研究の方法

- (1) ハエでは、ある特定の神経細胞のシナプス下流側に接続する神経細胞で特異的に遺伝子発現を誘導する方法が開発されている (trans-Tango; Talay et al, *Neuron*, 96:783-95, 2017)。これを用いて、甘味に反応する味覚感覚神経細胞と接続する二次神経細胞全体で蛍光蛋白質を発現させてそれらを可視化し、その数を研究代表者らが同定していた二次神経細胞の数の合計と比較する。
- (2) ハエでは、外来性の転写活性化因子の DNA 結合ドメインと転写活性化ドメインとを、それぞれ異なる 2 つの細胞集団で発現させることで、それらの共通部分のみで DNA 結合ドメインの認識配列下流に組み込んだ任意の外来遺伝子を発現させることができる (split-GAL4; Pfeiffer et al, *Genetics*, 186:735-55, 2010)。研究代表者らが同定していた味覚二次神経細胞の各タイプが 2 つの細胞集団の共通部分となるような組を探し出し、それらを組み合わせることで当該の味覚二次神経細胞のみで遺伝子発現を起こせるようにする。
- (3) 各種類の神経細胞を特異的に阻害したときに味覚行動がどのように変化するかを解析する。神経細胞の阻害のために、(2)で見つけ出した組を用いて当該の味覚二次神経細胞のみでダイナミンの温度依存性優性機能欠失変異体 (shibire) を発現させ、標的神経細胞のシナプス出力を抑制する。また、味覚行動としては、ショ糖水溶液と水の 2 つのうちで前者の方を選ぶ選好行動を用いた。加えて、ある匂い刺激をショ糖水溶液と同時に提示し、また別の匂い刺激を水と同時に

提示したあと、2つの匂い刺激のうち前者を好むようになる嗅覚連合学習行動も用いた。

4. 研究成果

(1) 研究代表者らが以前に同定していた二次神経細胞が、甘味の下流の味覚二次神経細胞のおよそ全てを標識できている、すなわち、甘味刺激によって惹き起こされる行動には、研究代表者らが同定していた二次神経細胞のいずれかが関わっていることを示唆する結果を得た。研究代表者らが同定していた15タイプの二次神経細胞は、各タイプ、約2~40個の細胞からなっていて、これらを合計すると約150個になった。一方、trans-Tango法で可視化した、甘味に反応する味覚感覚神経のシナプス下流側の神経細胞全体の総数は約150個だった。このように、15タイプの細胞数の合計と、シナプス下流側の神経細胞数全体が一致していることは、15タイプが全体を網羅していることを示唆する。

(2) 15タイプの味覚二次神経細胞のうち2タイプについて、他の神経細胞では遺伝子発現を起こさずに当該の二次神経細胞のみで遺伝子発現を誘導できるような組を見いだした。

(3) 上記の2タイプのうち片方について、選好行動と嗅覚連合学習の行動実験を他機関の共同研究者が行ったところ、神経活動を操作したときとしなかったときの間でどちらの行動にも差はなく、このタイプの細胞はこれらの味覚行動には関与しないことが示唆された。もう片方のタイプについて研究代表者が選好行動の実験を試みたが、実験系が上手く動かなかった。そこで、実際の手技を共同研究者に習うことを検討したが、COVID-19流行による出張制限のためそれは適わなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 宮崎 隆明, 林 子暘, 李 奇鴻, マーク ストッファー, 伊藤 啓, 鈴木 えみ子
2. 発表標題 Comprehensive catalog of postsynaptic partners of sugar-sensitive gustatory sensory neurons of <i>Drosophila</i>
3. 学会等名 NEURO2019 (第42回日本神経科学大会 / 第62回日本神経化学会大会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮崎 隆明, 林 子暘, 李 奇鴻, マーク ストッファー, 伊藤 啓, 鈴木 えみ子
2. 発表標題 Comprehensive set of genetic drivers to label gustatory second-order neurons in <i>Drosophila</i>
3. 学会等名 48th Naito Conference on "Integrated Sensory Sciences Pain, Itch, Smell and Taste" (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮崎 隆明, 林 子暘, 李 奇鴻, マーク ストッファー, 伊藤 啓, 鈴木 えみ子
2. 発表標題 A genetic tool to label almost all subpopulation of postsynaptic neurons directly-connected to sugar-responsive sensory neurons in <i>Drosophila</i>
3. 学会等名 第18回国際シンポジウム「味覚嗅覚の分子神経機構」(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮崎 隆明, 林 子暘, 李 奇鴻, マーク ストッファー, 伊藤 啓, 鈴木 えみ子
2. 発表標題 Genetic drivers to label specific subsets of postsynaptic partners of sugar-sensitive gustatory sensory neurons of <i>Drosophila</i>
3. 学会等名 APDRC5 (5th Asia-Pacific <i>Drosophila</i> Research Conference) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮崎 隆明、林 子暘、李 奇鴻、マーク ストッファー、伊藤 啓、鈴木 えみ子
2. 発表標題 In vivo imaging to record neural activity of first- and second-order neurons in the gustatory system
3. 学会等名 第13回日本ショウジョウバエ研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮崎 隆明、林 子暘、李 奇鴻、マーク ストッファー、伊藤 啓、鈴木 えみ子
2. 発表標題 Genetic identification and live imaging of gustatory 2nd-order neurons that link sugar detection and feeding/reward systems in Drosophila
3. 学会等名 ECRO 2018 (28th Annual Meeting of the European Chemoreception Research Organization) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮崎 隆明、林 子暘、李 奇鴻、マーク ストッファー、伊藤 啓、鈴木 えみ子
2. 発表標題 Tastant delivery system to provide reproducible stimulation to the mouth of Drosophila
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮崎 隆明、林 子暘、李 奇鴻、マーク ストッファー、伊藤 啓、鈴木 えみ子
2. 発表標題 Genetic identification of gustatory second-order neurons to dissect information processing between the taste sensory system and the feeding/reward systems in Drosophila
3. 学会等名 第17回国際シンポジウム「味覚嗅覚の分子神経機構」
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮崎 隆明
2. 発表標題 味覚と摂食、味覚と報酬の間にある神経回路を解き明かす
3. 学会等名 昆虫脳コネクトーム研究 若手研究発表会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
米国	HHMI Janelia Research Campus		