

令和 5 年 5 月 26 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06928

研究課題名(和文) 嫌悪反応における能動性/受動性を調節する島皮質並列神経回路の解明

研究課題名(英文) A role of insula neural circuits in aversive behavior

研究代表者

竹本 誠 (Takemoto, Makoto)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・講師

研究者番号：20543408

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：島皮質は味覚や摂食行動に関わることが知られているが、島皮質ニューロン群がどのようにその機能を果たしているかについては十分に解明されていない。我々は、マウスの島皮質第5層から皮質下領域への神経回路を詳細に解析し、第5層が異なる投射経路をもつ2つのサブレイヤー(L5aおよびL5b)からなることを発見した。さらに光遺伝学的手法を用いることによって、L5aおよびL5bのニューロン群がそれぞれ渇水時の飲水行動を抑制および促進することを明らかにした。この発見は、動機付け行動のトップダウン調節機構の一端を明らかにしたものであり、摂食障害(過食症・拒食症)や依存症等の治療法開発に重要な示唆を与える。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、動機付け行動のトップダウン調節機構の一端を明らかにしたものであり、摂食障害(過食症・拒食症)や依存症等の治療法開発に重要な示唆を与える。

研究成果の概要(英文)：The insular cortex (insula) plays a role in taste sensation and feeding behavior, yet how insular neurons act remains unclear. We investigated the neuroanatomy of mouse insula layer 5 (L5) projecting to subcortical structures in detail, and found two sublayers (i.e. L5a and L5b) with distinct subcortical projections. Additionally, by using an optogenetic technique, we demonstrated that the activation of L5a and L5b suppressed and facilitated water drinking behavior, respectively, in thirsty mice. This finding suggests a role for insula in a top-down modulation of appetitive behaviors, and provides an insight into the therapeutic approach to feeding disorders (e.g. binge-eating and anorexia) and addiction.

研究分野：神経科学

キーワード：島皮質

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 情動制御における島皮質の役割として、嫌悪や不安行動への関与がこれまでに明らかにされてきたが、嫌悪反応の行動表出としての能動性と受動性をどのように制御しているのかについては不明なままであった。

(2) 我々は、島皮質における下降性神経回路に着目しており、これまでに、島皮質第 5b 層 (L5a) から外側視床下部 (LH) への経路および第 5a 層 (L5a) から扁桃体中心核外側 (CeL) への経路を発見したが、それぞれのサブレイヤーの役割は不明であった。

2. 研究の目的

研究開始当初は、島皮質の役割として嫌悪や不安行動への関与を想定していたが、L5b-LH 細胞群の光遺伝学刺激実験において飲水行動の促進が見られたことから、当初の予定を変更して、島皮質第 5 層サブレイヤーの渇水時飲水行動における役割を明らかにすることを目的として研究を行った。

3. 研究の方法

(1) 解剖学的解析

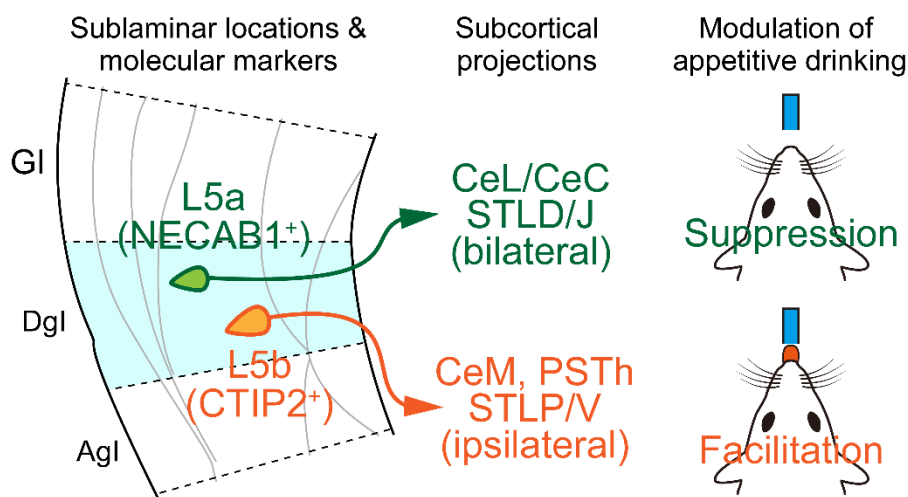
解剖学的にマウス島皮質第 5 層の各サブレイヤーの皮質下投射経路を同定した。各サブレイヤーニューロン群特異的に GFP を発現させるために、Cre リコンビナーゼ遺伝子を発現させるための逆行性アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを特異的投射領域 (L5a では対側 CeL、L5b では同側 LH) に微量注入し、さらに Cre 依存性 GFP 発現 AAV ベクターを島皮質に注入した。

(2) 機能的解析

マウス島皮質 L5 の各サブレイヤーニューロン群の刺激による渇水時飲水行動への影響を調べた。そのために、チャンネルロドプシン 2 (ChR2) 遺伝子を発現させる逆行性 AAV ベクターを上記の方法と同様に注入して L5a または L5b ニューロン群に ChR2 を発現させ、青色チップ LED を用いて島皮質表面から光照射することにより各ニューロン群を刺激した。光刺激は、ワイヤレスシステムを用いることにより自由行動下で行い、マウスが給水ノズルをリッキングするのに応じて微量の水と共に光照射 (10ms, 20Hz) を与えた。飲水行動実験では、シングルノズルの実験系において各飲水イベントにおける連続リッキング数への影響を調べ、2 本ノズルの二者選択試験において光刺激に対する嗜好性 (嫌悪性) を調べた。さらに、光刺激の不安様行動への影響を明らかにするために、オープンフィールド試験および高架式十字迷路試験を行った。

4. 研究成果

研究成果の概要を下図に示す (Takemoto et al., *iScience* in press)。



(1) 不全顆粒島皮質第 5 層のサブレイヤー特異的な皮質下投射経路

逆行性トレーサーのコレラ毒素 B サブユニットおよび逆行性 AAV-Cre と Cre 依存性 AAV-GFP を用いた解剖学的解析により、マウス不全顆粒島皮質における第 5 層のサブレイヤー (L5a および L5b) が異なる皮質下投射経路を有することを明らかにした。すなわち、L5a ニューロン群の投射は、扁桃体中心核において外側部 (CeL) および外包部 (CeC) に、分界条床核外側におい

て背側部 (STLD) および外包近傍部(STLJ)に局在していた。また、この投射パターンは両側性に見られた。一方、L5b ニューロン群の投射は、外側視床下部の視床下核傍核(PSTh)のほか、扁桃体中心核において内側部(CeM)、分界条床核外側において後側部(STLP)および腹側部(STLV)への局在が見られた。また、その投射はほとんど同側性のみに見られた。さらに、L5において異なる細胞群に発現する NECAB1 および CTIP2 が、L5a および L5b のサブレイヤーニューロン群にそれぞれ発現することが明らかとなった。

(2) 欲求飲水行動に対する第5層サブレイヤー刺激の相反する効果

18時間の絶水による渇水状態でのマウスの飲水行動に対して不全顆粒島皮質 L5 の各サブレイヤーニューロン群の光遺伝学的刺激の影響を調べたところ、L5a ニューロン群の刺激は行動を抑制したのに対して、L5b ニューロン群の刺激は行動を促進する効果が見られた。さらに、給水ノズルの二者選択試験(一方の給水時にニューロン刺激を付与)において給水ノズルに対する嗜好性を調べたところ、ニューロン刺激を付与した給水ノズルに対する有意な嗜好性(または嫌悪性)は見られず、各飲水イベントでの飲水時間(ノズルのリッキング数)の減少(L5a刺激時)または増加(L5b刺激時)のみが確認された。この結果から、渇水時飲水行動の調節は情動反応(嗜好または嫌悪)に起因するのではなく、モチベーションの調節によることが示唆された。各サブレイヤーニューロン群の光遺伝学的刺激による不安様行動の発現の有無について、オープンフィールドおよび高架式十字迷路を用いた解析を行った結果、いずれのサブレイヤー刺激も有意な効果は見られなかったことから、給水ノズルの二者選択試験の結果から示唆される考え(飲水行動の調節が情動反応に起因するものではない)を支持するものとなった。

本研究では、第5層サブレイヤーニューロン群が味覚野を包含する島皮質(不全顆粒性)の後軸全域に分布することが明らかになったことから、味覚(甘味・苦味など)に依存した行動調節だけではなく、味覚に依存しない様々な内的要因(空腹や不快など)・外的要因(餌の様子や天敵の音など)による摂食・飲水行動調節にも第5層サブレイヤーが関与する可能性が示唆された。各第5層サブレイヤーニューロン群がどのような情報をコードする(どのような刺激に応答する)のかを明らかにしていくことが、今後の課題である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Feian Chen, Makoto Takemoto, Masataka Nishimura, Ryohei Tomioka, Wen-Jie Song	4. 巻 400
2. 論文標題 Postnatal development of subfields in the core region of the mouse auditory cortex	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Hearing Research	6. 最初と最後の頁 108138
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.heares.2020.108138	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shiro Nakata, Makoto Takemoto, Wen-Jie Song	4. 巻 386
2. 論文標題 Differential cortical and subcortical projection targets of subfields in the core region of mouse auditory cortex	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hearing Research	6. 最初と最後の頁 107876
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.heares.2019.107876	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 竹本 誠, 宋 文杰
2. 発表標題 不全顆粒島皮質第5層の異なるニューロン群は飲水行動の抑制および促進に寄与する
3. 学会等名 第72回西日本生理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Makoto Takemoto, Wen-Jie Song
2. 発表標題 Opposing roles for anatomically distinct neuronal populations of insular cortex layer 5 in appetitive behavior
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会（Neuro2022）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Makoto Takemoto, Shigeki Kato, Kazuto Kobayashi, Wen-Jie Song
2. 発表標題 Anatomical and functional heterogeneity in layer 5 sublayers of the mouse insular cortex
3. 学会等名 Development and Plasticity of the Brain
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 竹本 誠
2. 発表標題 「嬉しさ」の探求に向けて
3. 学会等名 統合的脳神経科学・SIMo研究会
4. 発表年 2023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