

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：13101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20685

研究課題名（和文）神経系による飲水後の飲水抑制機構の解明

研究課題名（英文）Elucidating the neural mechanisms underlying thirst suppression

研究代表者

市木 貴子（Ichiki, Takako）

新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号：30778519

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：飲水後の持続的な飲水抑制には、消化管での低浸透圧感知が必要不可欠であることが示唆されてきたが、そのメカニズムは不明だった。本研究では、独自のイメージングの系を用いて、末梢器官において肝門脈を支配する迷走神経が低浸透圧刺激の感知に寄与することを明らかにした。これにより、体液恒常性を維持する神経基盤の一端を解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

長らく不明であった飲水抑制回路を明らかにすることは、体液恒常性を維持する神経基盤を解明するうえで非常に重要で決定的な研究となる。また、中枢のみならず末梢神経系の機能を明らかにすることで、飲水制御プロセスを身体全体における神経回路網のダイナミクスとして理解することにつながる。将来的には、飲水行動だけでなく、摂食行動などの別の欲求行動の制御メカニズムの解明に応用できる。

研究成果の概要（英文）：It has been suggested that hypoosmotic sensing in the gut is essential for sustained inhibition of water drinking, however the mechanism has remained unclear. In this study, using an originally established in vivo imaging, we demonstrated that the vagus nerve innervating the hepatic portal vein contributes to the sensing of hypoosmotic stimuli in peripheral organs. This study has elucidated an important aspect of the neural basis for fluid homeostasis.

研究分野：神経科学

キーワード：飲水抑制 肝門脈

1. 研究開始当初の背景

適切な飲水欲求の調節は、体液恒常性の維持に必要不可欠である。神経系による飲水制御メカニズムとしては、脳弓下器官(SFO, subfornical organ)に存在する神経群が飲水促進に寄与することが知られている(Oka, *et al.*, *Nature*, 2015)。このSFOの飲水促進ニューロンは、飲水後に体液浸透圧が変化する以前に強く抑制されることから、神経系による飲水抑制機構が存在することが示唆されている。飲水後の飲水抑制には、液体嚥下に反応して起こる一次抑制と、消化管での浸透圧感知によって持続的に働く二次抑制があると考えられている(図1)(Ichiki(研究代表者), *et al.*, *Curr. Opin. Neurobiol.*, 2019)。二次抑制のメカニズムには不明な点が多く残されており、消化管における飲水感知シグナルが中枢神経系に伝達される仕組みは未だ不明である。これまでに、消化管の感覚受容には、迷走神経が重要な役割を果たすことが明らかになっている(Williams, *et al.*, *Cell.*, 2016)。そこで、研究代表者は迷走神経が腸管内の浸透圧変化を感知し、飲水後の飲水抑制に寄与するかどうかを調べた。

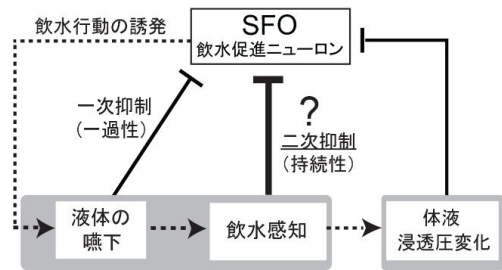


図1. SFO の飲水促進ニューロンに送られる飲水抑制シグナル

まず、迷走神経の求心性感覚神経節である節状神経節の *in vivo* カルシウムイメージングの実験系を確立した。具体的には、感覚神経依存的に GCaMP6 を発現するマウスライン(Vglut2-Ai96)を用いて、飲水を模した腸管内への水灌流刺激を行うと同時に、節状神経節ニューロンの応答を観察した。その結果、水による低浸透圧刺激に特異的に応答する神経群が存在することを明らかにした。しかし、低浸透圧刺激に特異的に反応する神経群が活性化するメカニズムは解明できていなかった。

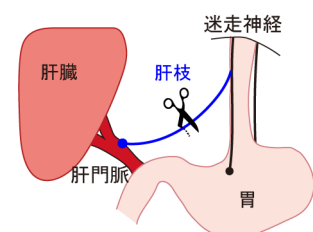
2. 研究の目的

これまでに、研究代表者はマウス *in vivo* 実験において、迷走神経が腸管内の低浸透圧刺激に特異的に反応することを初めて立証した。腸管から吸収された水分、栄養素は、上腸間膜静脈を経由してすべて肝門脈へ集められる。このことから、肝門脈を支配する神経群が、水分や栄養素の感知に何らかの役割を果たすことが示唆されてきた。これまでに、*in vitro* の実験系にて肝門脈が浸透圧変化を感知する可能性が示されている(Lechner, *et al.*, *Neuron*, 2011)。しかしながら、肝門脈の低浸透圧感知を *in vivo* 条件下において直接的に確かめた例はなかった。さらに、肝門脈を支配する迷走神経の役割は明らかとなっていない。本研究では、末梢器官において、肝門脈を支配する迷走神経が低浸透圧刺激の感知に寄与するかどうかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

研究1. 迷走神経の肝枝を選択的に切除し、その影響を調べる

(i) 肝枝の選択的切除後の低浸透圧刺激に対する迷走神経応答を確かめる迷走神経には分枝が存在し、代表的なものの一つとして、肝門脈を支配する肝枝 (Hepatic branch) がある。節状神経節の *in vivo* カルシウムイメージングを行い、この肝枝を選択的に切除(図2)した後に、水による低浸透圧刺激に特異的に応答する神経群の反応に変化があるかどうかを確かめる。変化が認められた場合、コントロールと



選択的肝枝切除

図2. 肝枝の選択的切除の模式図

して、腸管への機械的刺激（膨張刺激）に対する反応に変化がないことを確かめる。なお、肝枝は肝臓、門脈のみならず膵臓、十二指腸も支配している。肝門脈特異的な反応を確かめるためには、膵臓、十二指腸部位のみの denervation (除神経) を 85% フェノール塗布にて行い、反応に変化がないかどうかを確かめる。

(ii) 肝枝の選択的切除後の飲水量変化を調べる

肝門脈を支配する迷走神経が飲水行動に及ぼす影響を調べるために、マウス肝枝の選択的切除を行い、偽手術群（Sham オペ群）と比較して飲水量に変化があるかどうかを確かめる。具体的には、24 時間脱水後の飲水量、もしくは定常状態での 1 日の飲水量に変化があるかどうかを調べる。さらに、飲水量に変化があった場合、それが飲水感知の低下によるものなのか、もしくは飲水欲求の上昇によるものなのかを調べるために、オペラント条件付け実験を行う。脱水後、レバー押しによって飲水できることを学習させた後、Sham オペ群と肝枝の選択的切除群で、レバー押し回数に違いがあるかどうかを確かめる。回数に差が認められなかった場合、飲水量の増加は飲水後の低浸透圧感知の障害によるものと考えられる。

研究 2. 肝門脈が低浸透圧刺激に直接的に反応するかどうかを調べる

(i) 肝門脈への低浸透圧刺激に対する迷走神経応答を確かめる

肝門脈が直接的に低浸透圧刺激を感知するかどうかを調べるために、肝門脈へカテーテルを挿入し、低張食塩水を注入した際に、迷走神経の応答が見られるか否かを節状神経節の *in vivo* カルシウムイメージングを用いて確認する (図 3)。応答が見られた場合、腸管の水灌流によって応答する神経群と、肝門脈刺激によって応答する神経群が同一であるかどうかを確認する。これにより、腸管によって吸収された水分が肝門脈を介して迷走神経にシグナルを送っているか否かを確かめる。なお、研究代表者は肝門脈へのカテーテル挿入、静置の手法を既に確立済である。

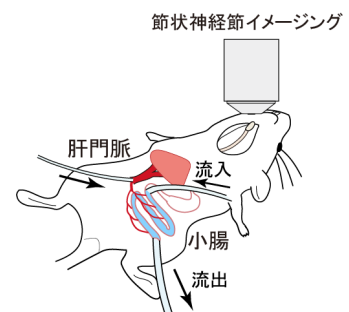


図 3. 肝門脈、小腸への低浸透圧刺激モデル

4. 研究成果

研究 1. 迷走神経の肝枝を選択的に切除し、その影響を調べる

(i) 肝枝の選択的切除後の低浸透圧刺激に対する迷走神経応答を確かめる

肝門脈を支配する迷走神経の分枝(肝枝)を切除し、腸管への低浸透圧刺激に対する応答を調べた。その結果、切除後に低浸透圧刺激に対する応答が消失することを確認し、一方でコントロールとして腸管への膨張刺激には変化が認められないことを確認した (図 4)。よって、肝門脈を支配する迷走神経は低浸透圧感知に寄与することがわかった。肝門脈特異的な反応を確かめるためには、膵臓、十二指腸部位のみの denervation (除神経) を 85% フェノール塗布にて行い、反応に変化がないことも確かめた。

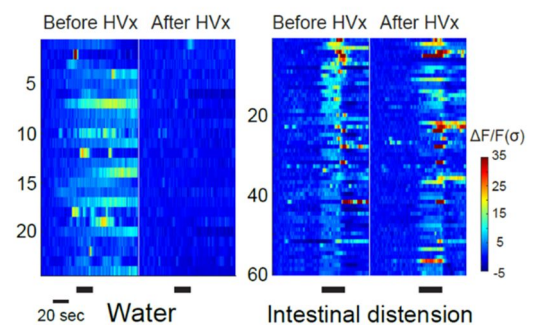


図 4. 肝枝の選択的切除後の迷走神経応答

(ii) 肝枝の選択的切除後の飲水量変化を調べる

マウス肝枝の選択的切除を行い、偽手術群 (Sham オペ群) と比較して 24 時間脱水後飲水量に変化があるかどうかを調べた。その結果、肝枝切除後に脱水後の飲水量が有意に増加することを確認した(図5)。さらに、脱水後、レバー押しによって飲水できることを学習させた後、Sham オペ群と肝枝の選択的切除群で、レバー押し回数に違いがあるかどうかを確かめた。回数に差が認められなかったため、飲水量の増加は飲水欲求の増加によるものではなく、飲水後の低浸透圧感知の障害によるものと考えられた(図6)。

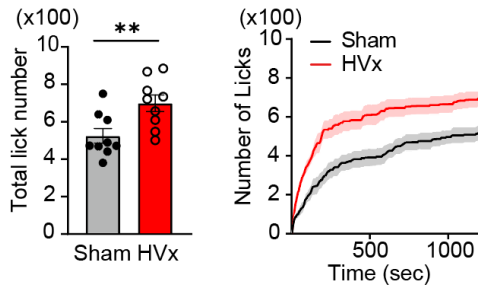


図5. 脱水後の飲水量

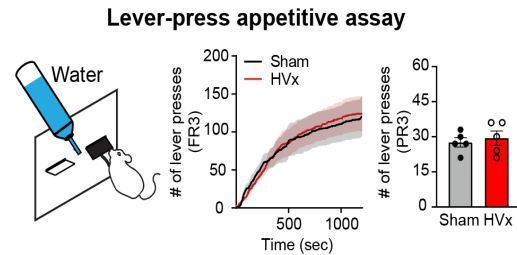


図6. オペラント条件付け実験

研究2. 肝門脈が低浸透圧刺激に直接的に反応するかどうかを調べる

(i) 肝門脈への低浸透圧刺激に対する迷走神経応答を確かめる

肝門脈へカテーテルを挿入し、低張食塩水を注入した際に、迷走神経の応答が見られるか否かを節状神経節の *in vivo* カルシウムイメージングを用いて確認した(図7)。

その結果、低張食塩水への応答は認められず、迷走神経は直接的な肝門脈への低浸透圧刺激には応答しないことがわかった。

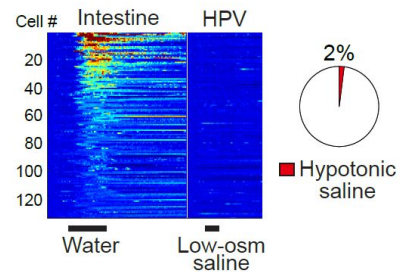


図7. 肝門脈への低浸透圧刺激

以上より、肝門脈が迷走神経を介して消化管内の低浸透圧刺激に反応し、飲水後の飲水抑制に寄与することが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ichiki Takako, Wang Tongtong, Kennedy Ann, Pool Allan-Hermann, Ebisu Haruka, Anderson David J., Oka Yuki	4. 巻 602
2. 論文標題 Sensory representation and detection mechanisms of gut osmolality change	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 468 ~ 474
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41586-021-04359-5	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 該当する

1. 著者名 市木貴子、岡勇輝	4. 巻 40
2. 論文標題 消化管における飲水感知メカニズムの解明	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 1436 ~ 1439
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18958/7011-00003-0000168-00	査読の有無 無
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2件（うち招待講演 2件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 市木貴子
2. 発表標題 消化管における低浸透圧感知メカニズム
3. 学会等名 第6回感覚フロンティア研究会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 市木貴子
2. 発表標題 迷走神経による消化管内の浸透圧感知メカニズム
3. 学会等名 日本生理学会第100回記念大会（招待講演）
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
---------	---------