

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 23 日現在

機関番号：32665

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26861801

研究課題名(和文) 味覚の発達を支える島皮質における摂食促進因子のシナプス伝達修飾作用

研究課題名(英文) Feeding-stimulating factor modulates synaptic transmission in the insular cortex

研究代表者

武井 浩樹 (TAKEI, Hiroki)

日本大学・歯学部・助教

研究者番号：50632543

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：パッチクランプ法を用いて、摂食促進因子であるオレキシンまたはMCHの島皮質における局所神経回路に対する修飾作用を明らかにすることを目的とした。オレキシンAを投与することにより、Fast spiking cell (FS) Pyramidal cell (Pyr) における単一性抑制性後シナプス電流 (uIPSCs) の振幅が増加した。また、オレキシンBの投与でもFS Pyrで生じるuIPSCsの振幅を増加された。オレキシン受容体1アンタゴニストとオレキシンの共投与にてuIPSCの振幅の変化はみられなかった。以上よりオレキシンは島皮質の局所回路に抑制的に働くことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Orexin and MCH are hormone that increase appetite. The insular cortex (IC) expresses these receptors. However almost no information is about the functional roles of these hormones in the IC. To explore this, I performed multiple whole-cell patch clamp recording in the rat IC slice preparation. Orexin A increased the amplitude of unitary inhibitory postsynaptic current (uIPSC) in fast-spiking neuron (FS) to pyramidal cell (Pyr) connections. Same as orexin A, I found that the amplitude of uIPSC in FS to Pyr was increased by orexin B. Pre-application of SB334867 that orexin receptor 1 antagonist diminished the orexin A/B-induced facilitation of uIPSC. These result suggest orexin is likely to play a role in suppression of gustatory information processing in the IC.

研究分野：小児歯科学

キーワード：オレキシン 島皮質

1. 研究開始当初の背景

近年、社会的に健康意識が高まっており、成人病を予防する様々な啓蒙が行われている。その一つとして「食育」が挙げられている。食育とは、食に関する知識を習得し、自らの食を自分で選択する判断力を身につけるための取り組みを目指し、2005年に設定された食育基本法では、国民が生涯にわたって健全な心身を培い、豊かな人間性を育てることを謳っている。「味覚」は食習慣を決定する最も重要な因子である。

口腔内に存在する味蕾で受容した味覚情報は、脳幹孤束核から視床後内側核を介して島皮質に入力される。入力した情報は、同皮質内に存在する興奮性・抑制性ニューロンによって構成される局所神経回路にて統合・処理させ、さらなる高次脳へと出力される。

島皮質には内環境を知覚するための痛覚、内臓感覚、味覚などに関する情報が収束することから、視覚野や聴覚野とは異なり複数種の感覚入力を受け、情動と結び付ける特殊な感覚野とみなすことができる。そこで、古くから一次味覚野として知られている島皮質のニューロンに焦点を当てて研究を行ってきた。

2. 研究の目的

味覚情報は様々な因子の修飾作用により処理されているものと考えられ、その一つとして食欲に関連する摂食調節因子が挙げられる。島皮質は摂食中枢である視床下部と密な神経連絡が存在する。したがって、味覚と食欲の情報は島皮質にて統合されている可能性がある。摂食調節因子には摂食抑制因子と摂食促進因子がある。

主要な摂食抑制因子としてレプチンが挙げられる。レプチンにより島皮質内で抑制性シナプス性後電流の振幅が増大されることを以前明かした。

主要な摂食促進因子としてオレキシンと Meranin concentrating hormone (MCH) が知られている。それぞれの受容体は島皮質に分布していることが報告されている。しかし、受容体の存在が確認されているのにも関わらず、その神経活動修飾作用は明らかとされていない。そこで本研究では、多チャンネル同時ホールセル・パッチクランプ法を用いてオレキシンおよびMCHの島皮質における局所神経回路に対する修飾作用を明らかにすることを目標とする。

3. 研究の方法

(1) 実験には Venus 蛍光タンパク遺伝子ノックインラット、いわゆる Venus 発現ラットを用いる。通法によって厚さ 350 μm の急性脳スライス標本を作製する。脳スライス標本を記録用チャンバーに静置し、標準人口脳脊髄液を 2-3 ml/分 で灌流する。実態顕微鏡および CCD カメラにて記録したい細胞を同定する。

この際、蛍光観察にて Venus 陽性ニューロン(抑制性ニューロン)および Venus 陰性ニューロン(興奮性ニューロン)を分別する(図 1)。記録用ガラス電極に Cl^- の平衡電位が -15 mV になるように設定された電極内液を充填し、わずかな陽圧を付加した状態で電動マニピュレータにてニューロンにアプローチし、電極の先端がニューロンに到達したら陽圧を解除しギガシールを形成する。その後、陰圧を付加してホールセルを形成する。パッチクランプ法を用いて膜電位を記録し、脱分極パルスに対する発火パターン、発火閾値などの膜応答特性の差異により記録するニューロンを大別する。分類したニューロンに対し、 -60 mV の電位固定し複数のニューロンから膜電位を同時に記録する。さらに脱分極性パルス刺激(80 mV , 2.5 ms)を各ニューロンに順番に行い、記録するニューロン同士でのシナプス結合を見つける。その後、パルス刺激によって誘発された単一シナプス後電流を各ニューロンより記録する。

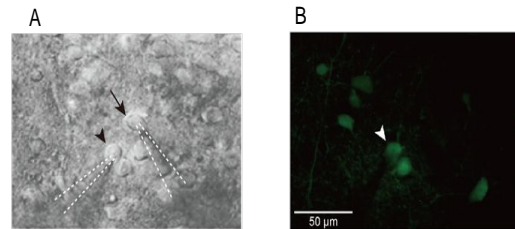


図 1. 興奮性・抑制性ニューロンの分別

(2) シナプス伝達に対するオレキシンおよびMCHの影響を調べるために、オレキシンまたはMCH投与中のシナプス後電流の振幅の変化を解析する。

(3) オレキシンおよびMCHの投与にてシナプス後電流の振幅の変化が認められた場合、それぞれの細胞内情報伝達経路の阻害薬を共投与する。共投与した際の振幅の変化を解析する。

4. 研究成果

オレキシンの単一性抑制性シナプス後電流 (unitary inhibitory postsynaptic current: uIPSC) への修飾作用について検討した。

島皮質内の抑制性ニューロンは大きく fast spiking neuron (FS) と non-fast spiking neuron (non FS) に分類でき、興奮性ニューロンは pyramidal neuron (Pyr) である。

(1) オレキシン A (100 nM) の投与により、FS Pyr の uIPSC の振幅が有意に増加した(図 2 A/B)。一方、nonFS Pyr における uIPSC の振幅はオレキシン投与による有意な変化は認められなかった。

FS Pyr の uIPSC 振幅増加が認められたため、Paired-pulse ratio と Failure rate に

関してオレキシン投与前後で解析した。Paired-pulse ratioと Failure rateともにオレキシンによる有意な変化は認められなかった(図2C)。300 nMのオレキシンA投与でもFS PyrのuIPSC振幅増加がみられた。

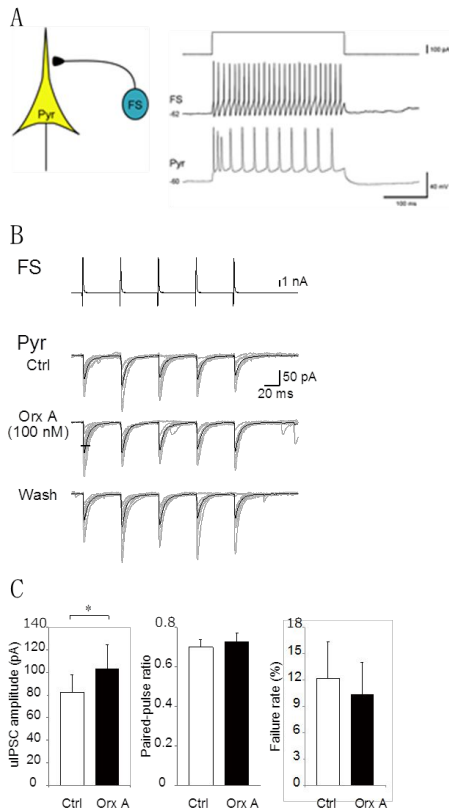


図2. オレキシンAによるuIPSC振幅の増加

(2) オレキシンB(100 nM)の投与によりFS PyrにおけるuIPSCの振幅はオレキシンAと同様に有意に増加した(図3A)。Paired-pulse ratioと Failure rateはオレキシンB投与前後で有意な変化は認められなかった(図3B)。

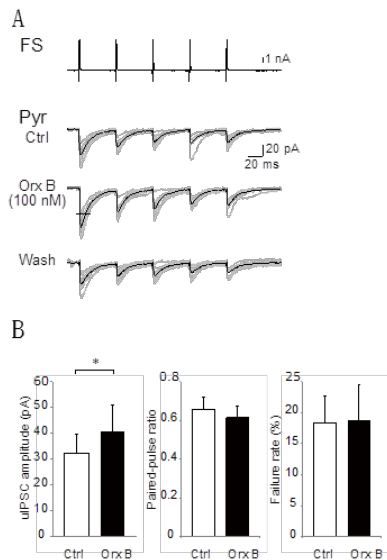


図3. オレキシンBによるuIPSCの変化

(3) オレキシン受容体にはオレキシン受容体1とオレキシン受容体2が存在する。そこでまず、オレキシン受容体1の選択的アンタゴニストであるSB334867(100 nM)とオレキシンA/Bそれぞれの共投与でのFS PyrにおけるuIPSCの振幅について検討した。オレキシンA/Bともに単独投与でみられたuIPSCの振幅の増加はSB334867を共投与することによりみられなくなった(図4)。

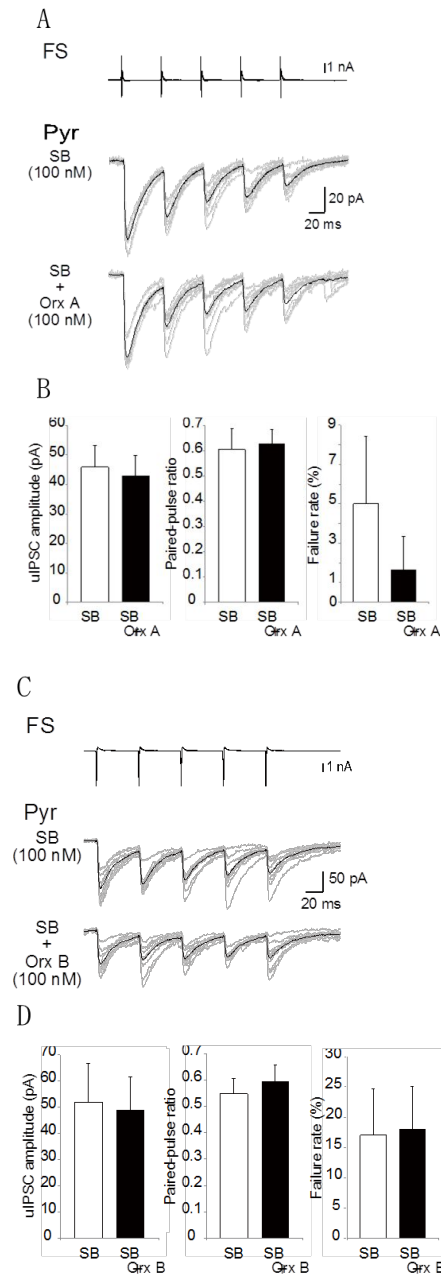


図4. オレキシンA/Bとオレキシン受容体1アンタゴニスト共投与によるuIPSC振幅の変化

(4) (1)(2)の結果より、摂食促進因子であるオレキシンはFS PyrのuIPSCの振幅を増加させることが明らかとなった。また(3)よりオレキシンのuIPSC振幅増加はオレキシン受容体1を介して生じていることが示唆された。

以上より、オレキシンは島皮質における味

覚情報処理に対して抑制的に作用することが示唆された。

5．主な発表論文等

[雑誌論文] (計0件)

[学会発表] (計0件)

6．研究組織

(1)研究代表者

武井 浩樹 (TAKEI, Hiroki)

日本大学・歯学部・助教

研究者番号：50632543