



2023/1/5

東京慈恵会医科大学

大阪大学

マウスにおいて恐怖による摂食抑制を担う神経基盤(IPB-PSTN 経路)を世界で初めて解明 ～ ストレスと摂食制御を関連づける中枢メカニズムの解明に期待 ～

東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター臨床医学研究所の永嶋宇ポストドクトラルフェローと渡部文子教授らは、大阪大学大学院薬学研究科の橋本均教授らと共同で、マウスの脳幹にある外側腕傍核(IPB)から視床下部の傍視床下核(PSTN)への経路が、恐怖によって生じる摂食抑制に重要な役割を担うことを発見しました。ストレスや恐怖が摂食行動に影響を与える神経回路メカニズムの解明において、大きな進歩となることが期待されます。また、傍視床下核に豊富に存在する神経修飾ペプチドの1つ(下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド(PACAP))が、嫌悪学習と摂食制御に重要であることも発見し、分子レベルから個体レベルに至る一連の知見を見出しました。

この成果は、日本時間 2022 年 12 月 30 日に国際科学誌「*Nature Communications*」に掲載されました。

気分障害や不安障害などの精神疾患、糖尿病やCOPDなどの生活習慣病といった多様な疾患において、摂食行動異常や情動制御障害が知られていますが、その神経回路メカニズムには未だ不明な点が多く存在します。

これらの問題の解決を目指して、本研究ではマウスにおける脳幹の腕傍核から視床下部の傍視床下核への経路(IPB-PSTN 経路)に着目し、情動と摂食行動の相互作用を担う神経回路を解析しました。光遺伝学、薬理遺伝学と行動学や電気生理学的手法を組み合わせ、以下の成果が得られました。

【研究成果、ポイント】

- 全脳高速イメージング技術により、外側腕傍核(IPB)から傍視床下核(PSTN)への強い投射を検出した
- 脳の IPB-PSTN 経路が、恐怖などの嫌悪シグナルを介して摂食抑制を担っていることを発見した
- IPB-PSTN 経路による嫌悪シグナルは PSTN の PACAP 陽性細胞によって伝達されることを発見した
- 従来では個別に研究されることが多かった情動と摂食行動について、相互作用の仕組みに着目した
- ヒトにも存在する脳領域(PB や PSTN)や分子(PACAP)について解明が進み、今後の摂食行動異常や情動制御障害などのメカニズム解明や治療法開発が期待される

研究の詳細

1. 背景

ヒトを含む動物において摂食行動は、エネルギー摂取ひいては生存に直結します。摂食行動は動物の栄養状態に駆動される一方で、ストレスや恐怖などの内的環境や情動にも大きく左右されることが知られていますが、その神経回路メカニズムには不明な点が多く存在します。

これまでに我々は、脳幹の橋にある腕傍核が飢餓や痛みシグナルを中継し、腕傍核から扁桃体への人工的回路操作が人工的な恐怖記憶を作ることを明らかにしてきました¹。そこで、本研究では、情動と摂食行動との相互作用のハブとして、腕傍核に着目しました。

2. 手法・成果

I. 外側腕傍核 (IPB) – 傍視床下核 (PSTN) 経路の特徴

大阪大学の橋本均教授や笠井淳司准教授らが開発した全脳高速イメージング技術 (FAST)² を用いてマウス外側腕傍核 (IPB) の投射先を網羅的に解析したところ、傍視床下核 (PSTN) への強い投射が認められました (図 1 上段)。さらに、逆行性トレーサーを用いた組織観察からも、IPB-PSTN 経路の存在が示唆されました (図 1 下段)。実際に IPB-PSTN 経路が機能的にもシナプスを形成していることを、光遺伝学と電気生理学的手法を組み合わせ、光誘発ポストシナプス電流 (EPSC) 解析により確認し、IPB-PSTN 経路が単シナプス性グルタミン酸性シナプスであることを明らかにしました。

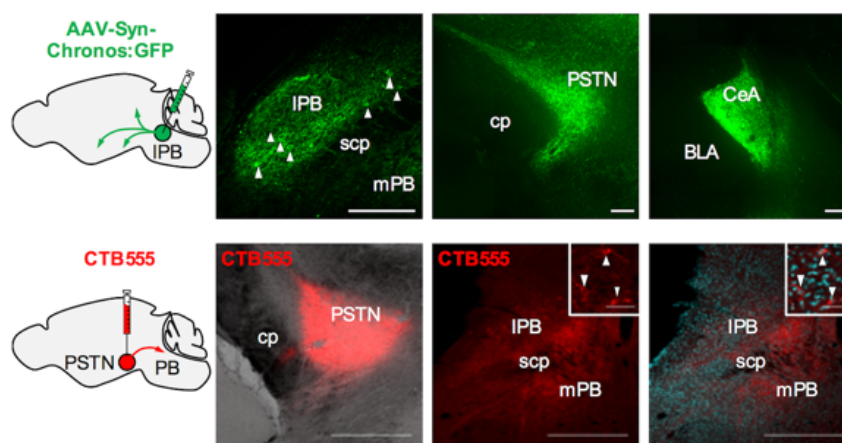


図1 IPB-PSTN経路の特徴

上段：アデノ随伴ウイルス (AAV) を用いて、チャネルロドプシンと融合させたGFPをIPBの神経細胞に発現させました。全脳イメージングシステム (FAST) でIPB神経細胞の投射先を解析した結果、PSTNや扁桃体中心核 (CeA) が検出されました。

下段：PSTNに逆行性トレーサー (CTB555) を導入したところ、IPBの細胞体でCTB555が観察され、IPB-PSTN経路の存在が強く示唆されました。

II. IPB-PSTN 経路の活性化による嫌悪行動の誘導と摂食行動の抑制

そこで IPB-PSTN 経路の生理的役割を明らかにするため光遺伝学的介入を行ったところ、IPB-PSTN 経路の活性化は、場所嫌悪学習および摂食抑制を誘導することが明らかとなりました (図 2)。さらに、嫌悪行動の指標と摂食行動の指標の相関解析を行った結果、嫌悪行動を強く示した個体ほど、摂食行動が抑制されるという相関関係が検出され、IPB-PSTN 経路による摂食抑制は、嫌悪シグナルが担っていることが示唆されました。

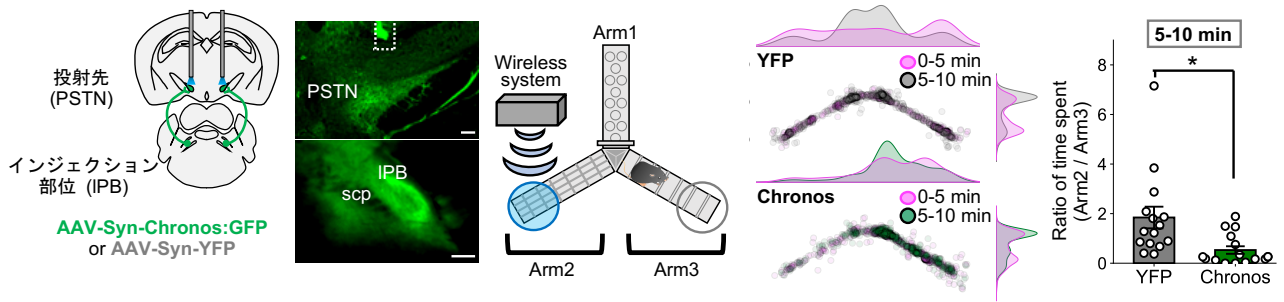


図2 IPB-PSTN経路の活性化による回避行動の誘導

光遺伝学的手法により、PSTNに投射したIPBの軸索終末を光刺激できるように光ファイバーを埋め込みました。場所嫌悪試験では、Y字迷路の2つのアームを自由に行き来できる条件で、一方のアーム (Arm2) にマウスが入ると、光刺激を行う系を用いました。その結果、チャネルロドプシン (Chronos) を発現させたマウスは、光刺激側のアームを避けて、もう一方のアーム側に長く滞在しました。このことから、IPB-PSTNの活性化は回避行動を誘導することが分かりました。

III. 恐怖記憶による摂食抑制への介入

上の結果を踏まえ、ストレス環境下での摂食抑制行動試験³を用いた光遺伝学および薬理遺伝学的抑制操作の解析を行いました。その結果、コントロール群では、恐怖記憶の想起にともなって摂食行動が強く抑制された一方で、PSTN抑制群においては摂食行動の有意な亢進が見られました (図3)。さらに IPB-PSTN 経路特異的な抑制も摂食抑制作用を顕著に減弱させたことから、IPB-PSTN 経路が恐怖による摂食抑制に必要であることが明らかになりました。

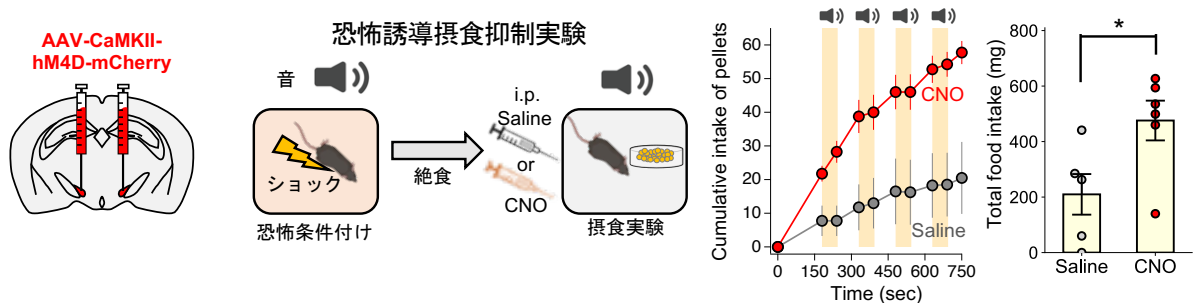


図3 IPB-PSTN経路の抑制による摂食亢進

神経活動を抑制する人工受容体 (hM4D) をPSTNの神経細胞に発現させました。恐怖による摂食抑制行動試験では、1日目に音と電気ショックを同時に提示して恐怖条件付けを行い、2日目に音のみを提示した際の摂食行動を調べました。その結果、PSTNを薬理遺伝学的に抑制したCNO群では、コントロール群よりも摂食量の増加が見られました。

IV. PSTNにおけるPACAP陽性細胞の機能解析

PSTNにはタキニン (Tac1) などの神経ペプチドを発現する細胞が存在することが知られています⁴。本研究では、新たにストレスや摂食行動との関係が知られている神経ペプチド (下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド (PACAP)) を発現する細胞が PSTN に豊富に存在し (図4左)、様々な脳領域に投射しているという特徴を見出しました。

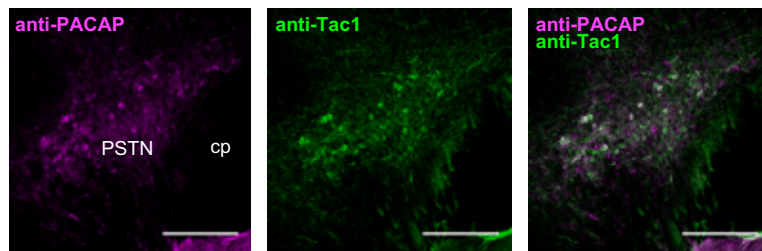


図4 PSTNにはPACAP陽性細胞が豊富に存在

免疫組織観察によって、PSTNにはPACAP陽性細胞が豊富に発現していることが分かりました。PSTNのマーカー分子（Tac1）とPACAPは部分的にオーバーラップすることが分かりました。

さらに、PSTNのPACAP陽性細胞を薬理遺伝学的に抑制すると、IPB-PSTNの活性化によってみられた場所嫌悪学習が顕著に減弱しました。これらの結果から、機能的にもPSTNのPACAP陽性細胞が、IPBの主要な投射ターゲットであることが明らかになりました。さらに、PACAP分子の機能解析をおこなったところ、PACAP受容体のアンタゴニスト(PA8)⁵投与はIPB-PSTNの活性化による場所嫌悪記憶を顕著に減弱させたことから、PACAPシグナル伝達が場所嫌悪記憶に関与していることが示唆されました。以上の研究成果のまとめを図5に示します。

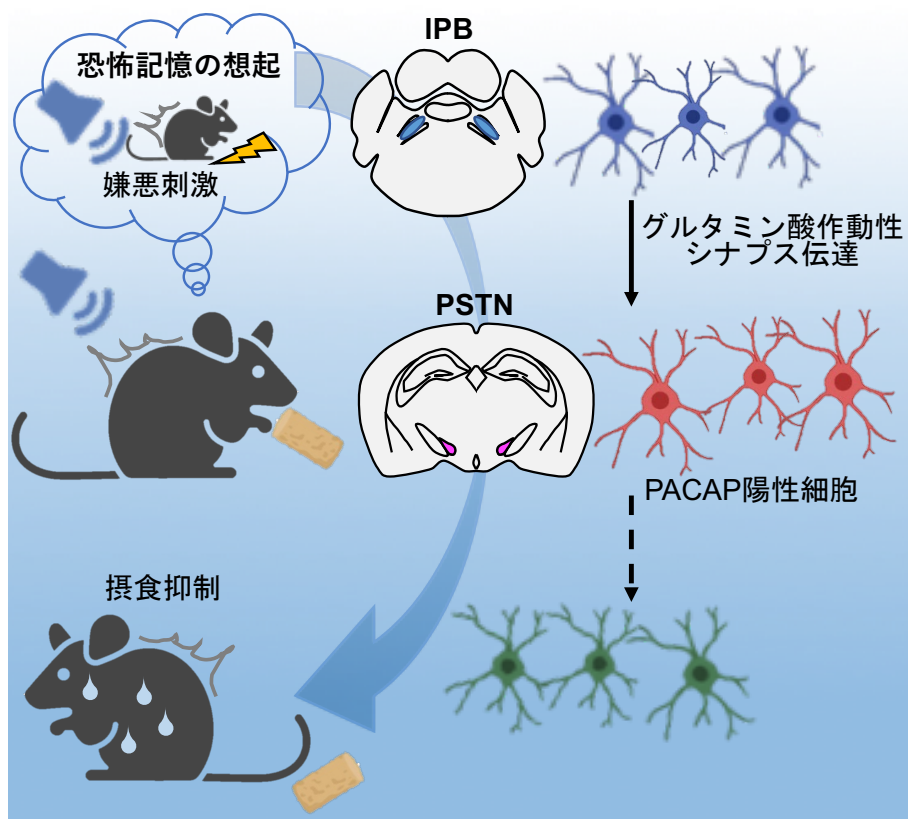


図5 本研究のまとめ

3. 今後の応用、展開

本研究では IPB-PSTN 経路が、嫌悪シグナルを介して摂食抑制を担っていることを発見しました。これまで情動と摂食行動は独立に研究される傾向がありましたが、本研究は両者の制御を担うシグナルの相互作用メカニズムの解明に貢献できると考えています。また、PSTN は他の脳領域に比べて、機能に関する報告が少ない脳領域です。今回見出した PSTN における PACAP 陽性細胞の知見が、今後のブレイクスルーとさらなる研究の加速に繋がることが期待されます。さらに、今回着目した PB や PSTN といった脳領域や PACAP 分子はマウスのみならずヒトにも存在します。多様な疾患で見られる摂食行動異常や情動制御障害などのメカニズムの解明や治療法の開発にも繋がる基礎研究に貢献できる可能性が考えられます。

4. 用語説明

- ・光遺伝学: 微生物から単離されたイオンチャネル型の光活性化タンパク質(チャネルロドプシン)を神経細胞に発現させて光を照射することにより、神経細胞活動の亢進や抑制を人工的に操作することができる手法です。
- ・薬理遺伝学: 神経細胞に人工受容体(DREADD)を発現させて特異的なリガンド(CNO など)を投与することにより、神経細胞活動の亢進や抑制を人工的に操作することができる手法です。
- ・Lateral parabrachial nucleus (IPB): 外側腕傍核。脳幹の橋(きょう)という領域に存在する神経核。痛みや温度、睡眠や呼吸、飢餓感など多様な感覚情報に関与することが知られています¹。
- ・Parasubthalamic nucleus (PSTN): 傍視床下核。摂食後などに活性化し、摂食抑制への関与が報告されています⁴。
- ・Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide (PACAP): 下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド。脳の視床下部を含め、幅広い組織に発現しています。神経系においては、シナプス可塑性や細胞の分化への関与が知られています。

5. 研究サポート

本研究は、AMED 脳とこころの研究推進プログラム(革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト(Brain/MINDS))、CREST オプトバイオ研究領域、および日本学術振興会科学研究費の支援を受けたものです。

6. 論文情報

雑誌名: *Nature Communications*

論文タイトル: Parabrachial-to-parasubthalamic nucleus pathway mediates fear-induced suppression of feeding in male mice

著者: Takashi Nagashima¹, Suguru Tohyama¹, Kaori Mikami¹, Masashi Nagase¹, Mieko Morishima¹, Atsushi Kasai², Hitoshi Hashimoto²⁻⁶, and Ayako M. Watabe^{1*}

著者(日本語表記): 永嶋宇¹, 遠山卓¹, 三上香織¹, 永瀬将志¹, 森島美絵子¹, 笠井淳司², 橋本均²⁻⁶, 渡部文子^{1*}(*責任著者)

¹ 東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター 臨床医学研究所

² 大阪大学大学院薬学研究科 神経薬理学分野

³ 大阪大学・金沢大学・浜松医科大学・千葉大学・福井大学 連合小児発達学研究科 附属子どものこころの分子統御機構研究センター 動物モデル解析部門

⁴ 大阪大学データビリティフロンティア機構 バイオサイエンス部門

⁵ 大阪大学先導的学際研究機構 超次元ライフイメージング研究部門

⁶ 大阪大学大学院医学系研究科 分子医薬学

7. 引用文献

1. Nagase, M., Mikami, K. & Watabe, A. M. Parabrachial-to-amygdala control of aversive learning. *Curr. Opin. Behav. Sci.* **26**, 18–24 (2019).
2. Seiriki, K. *et al.* High-Speed and Scalable Whole-Brain Imaging in Rodents and Primates. *Neuron* **94**, 1085–1100.e6 (2017).
3. Yang, B. *et al.* Locus coeruleus anchors a trisynaptic circuit controlling fear-induced suppression of feeding. *Neuron* **109**, 823–838.e6 (2021).
4. Kim, J. H. *et al.* A discrete parasubthalamic nucleus subpopulation plays a critical role in appetite suppression. *eLife* **11**, (2022).
5. Takasaki, I. *et al.* In silico screening identified novel small-molecule antagonists of PAC1 receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **365**, 1–8 (2018).

本プレスリリースの「図 1, 2, 3, 4」は原著論文の「図 1, 2, 4, 6」を引用、改変したものを使用しています。一部のイラストは BioRender を使用して作成しました。

8. お問い合わせ先

【本研究内容についてのお問い合わせ先】

渡部文子(わたべ あやこ)

東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター 臨床医学研究所 教授

電話: 03-3433-1111 (代) メール: awatabe@jikei.ac.jp

橋本均(はしもと ひとし)

大阪大学 大学院薬学研究科 教授

電話: 06-6877-5111 (代) メール: hasimoto@phs.osaka-u.ac.jp

【報道機関からのお問い合わせ窓口】

学校法人慈恵大学 経営企画部 広報課

電話: 03-5400-1280 メール: koho@jikei.ac.jp

国立大学法人大阪大学大学院薬学研究科 庶務係

電話: 06-6879-8143 メール: yakugaku-syomu@office.osaka-u.ac.jp

以上