

高ショ糖食の明期反復経験によるマウスの摂食関連脳活動の日内変動

具 滋閔

【背景と目的】

ヒトを含む動物の生存に必須である摂食は、体内の概日時計に基づく概日リズムから影響を受けている。動物は主として活動期に摂食を行う。しかしながら、ヒトは、不活動期である夜間に摂食を行うことがある。摂食障害の一種である夜間摂食症候群は、肥満、精神疾患のリスクを高めることが知られている。このように、不活動期における摂食行動は、心身の健康を害する恐れがあり、原因の解明が必要とされている。

不活動期における摂食行動は、げっ歯類であるマウスでも見られる。先行研究では、明期の一定時間帯にマウスが好む高ショ糖食を反復呈示すると、マウスの明期摂食行動が増加することが示された。また、ニオイ刺激を脳に伝達する嗅神経を切断すると、明期摂食行動の増加が阻害されることが明らかになっている。このような結果は、ニオイ刺激が明期摂食行動の増加に必須であることを示唆している。

また、著者の卒業研究では、明期に高ショ糖食を反復経験し、明期摂食行動が増加している個体の視床下部ではその脳活動が増加していることを示唆する結果を得た。さらに、他の先行研究では、視床下部背内側核の破壊で明期摂食行動が弱化した。これらの結果から、視床下部は明期摂食行動に影響を及ぼしている可能性が示唆される。そこで、本研究では、摂食促進作用を有する視床下部外側野のオレキシンニューロンとメラニン凝集ホルモン(melanin-concentrating hormone: MCH)ニューロン、さらに、報酬行動に関する腹側被蓋野のドーパミン作動性ニューロンの活動性と明期摂食との関連性を調べた。

【実験 1】ニオイ刺激と視床下部の神経応答

実験 1 では、マウスに高ショ糖を 8 日間反復呈示し、明期摂食行動を増加させた。その翌日、高ショ糖食をマウスに呈示するが、摂食はできない条件下で、そのニオイ刺激のみをマウスに呈示し、ニオイ刺激が視床下部外側野と腹側被蓋野の神経活動を活性化させるのかどうかを測定した。神経活動活性化は c-Fos タンパク質を免疫組織化学的に検出し、その免疫シグナル陽性の細胞数を計数化することで行った。その結果、呈示したニオイ刺激の種類(通常食・高ショ糖食)に関わらず、視床下部外側野や腹側被蓋野の神経活動は同程度に活性化された。また、視床下部外側野において活性化された神経細胞の多くはオレキシンニューロンであった。視床下部外側野における MCH 産生ニューロンや腹側被蓋野のドーパミンニューロンは、全ての群のマウスにおいて、神経活動の活性化は見られなかった。一方で、一定以上の明期での摂食量を継続的に示した動物では、呈示された飼料の種類に関わらず、明期摂食を示さないマウス群と比較してオレキシンニューロンの活性化は有意に多かった。

以上の結果から、オレキシンニューロンは、ニオイ刺激よりも、定期的に明期摂食を行うという行動変容に依存して活性化されることが示唆された。また、神経細胞の活動を計測した時点は、マウスが飼料を摂食できなかつたことから、オレキシンニューロンの活性化は、摂食行動そのものよりも、摂食を行う時間そのものに依存した活動変化であることが示唆された。

【実験 2, 3 の背景】

実験 1 は、ニオイ刺激よりも、継続的な明期摂食の実行の方がオレキシンニューロンの活動性を促進するという結果となった。また、オレキシンニューロンは、明瞭な明期摂食行動が確立していれば、呈示される飼料の種類には無関係に活性化していた。そのため、ニオイ刺激の影響力が、反復呈示によって弱化

し、摂食時間からの影響力が増大するというモデルを考案した。

【実験 2】高ショ糖食の反復経験によるオレキシンニューロンの活動様相変化

明期摂食行動が時間依存的であることを調べるために、(明期開始から 2 時間後; zeitgeber time 2, ZT2)にマウスに高ショ糖を 8 日間反復呈示し、明期摂食行動を増加させ、その摂取量を安定させた。その翌日、飼料は何も給餌しない条件下での ZT2 とその 4.5 時間後 (ZT6.5)におけるオレキシンニューロンの神経活動を c-Fos 免疫染色法を用いて調べた。結果として、活性化していたオレキシンニューロンの数は、高ショ糖食を呈示した群では、ZT6.5 よりも ZT2 の方が多い傾向がみられた。しかしながら、実験 2 では、明期に高ショ糖食を反復呈示された群の高ショ糖食摂食量と、通常食を反復呈示された群の通常食摂食量には差はみとめられなかった。つまり、高ショ糖食群での ZT2 でのオレキシンニューロンの活性化が明期摂食依存的であるとは明確に示唆できなかった。そこで、実験 3 では、通常食よりも味覚嗜好性がより高いチョコレートを用いて、同様の実験を行った。

【実験 3】高嗜好食の反復経験によるオレキシンニューロンの活動様相変化

別群のマウスにチョコレートを明期の一定時間帯に呈示する操作を 8 日間行ったところ、チョコレートの明期摂食量は通常食呈示群の通常食摂取量に比べて有意に増加した。翌日、チョコレートや通常食を呈示せずに、ZT1 もしくは ZT6.5 での c-Fos 免疫染色性を調べた。チョコレート呈示群では、ZT1 時点での視床下部外側野オレキシンニューロンの活性化が、ZT6.5 での活性化よりも有意に高かった。しかしながら、通常食呈示群でも同様の結果が見られたため、視床下部外側野オレキシンニューロンは、呈示された飼料の種類に関わらず、ZT6.5 よりは ZT1 に活性化されることが分かった。一方、オレキシンニューロンの一部では、呈示された飼料の種類によって活性化率が異なることが示唆された。ブレグマから前後軸方向に後方 1.30 mm 付近でのオレキシンニューロンにおける活性化された細胞数は、チョコレート呈示群では通常食呈示群に比べて有意に多かった。以上から、オレキシンニューロンの一部は、呈示された飼料の嗜好性の高さに基づいて活性化されること、さらに、時間依存的に活動することが示唆された。

【結論】

本研究の結果から、視床下部外側野のオレキシンニューロンの活動性は実際に摂食行動を行う時間に依存した活動へと変化する可能性が示唆された。また、オレキシンニューロンの一部では、呈示された飼料の嗜好性の高さに応じて時間依存的に活性化されることが明らかになった。しかしながら、本研究では、訓練期間中に高嗜好食が呈示されない時間帯 (ZT6.5) に高嗜好食を給餌する条件でのオレキシンニューロンの活動性は計測できなかつたため、本手続きに基づく明期摂食行動が時間依存的であることを完全には立証できなかつた。そのため、今後は、訓練期間中の呈示時間帯とは異なる時刻 (ZT6.5) に高嗜好食を呈示し、その摂食量やオレキシンニューロンの活動性を計測することが必要と考えられる。また、行動上の摂食予知に関連する運動(摂食予知活動)は測定しなかつたため、摂食予知活動と脳内神経細胞の活動との関連性を調べる必要がある。以上の課題は残るもの、本研究は、高嗜好食の明期反復呈示に由来する継続的な明期摂食行動には、明期給餌時間へのオレキシンニューロンの活動性の同期と、オレキシンニューロンの一部における味覚嗜好性に基づく活性化が関連することを明らかにした。これらの結果は、オレキシンニューロンが摂食同調振動子の一部であるという仮説を支持し、かつ、継続的明期摂食という摂食時間帯の変容の背景メカニズムの一つには、オレキシンニューロンの日内活動性における給餌時間への同期という変容があることを示唆する。(行動生理学)