

**研究者：武井 浩樹**（所属：日本大学歯学部小児歯科学講座）

**研究題目：幼若期の脳皮質味覚野における摂食促進因子の影響**

**目的：**

正常な味覚の発達には、健全な食習慣の獲得に不可欠である。味覚は様々な因子により修飾され、その一つに食欲が挙げられる。脳皮質島領野は一次味覚野として知られている。この領域は摂食中枢である視床下部との密な神経連絡が存在する。そのため、味覚が食欲の影響を受けている可能性がある。そこで、本研究では摂食促進因子であるオレキシンによる脳皮質味覚野における局所神経回路に対する修飾作用について、ホールセル・パッチクランプ法を用いて検討する。

**対象および方法：**

生後2~4週齢の幼若期ラットより島皮質を含む急性脳スライス標本をマイクロスライサーにて作製する。なお、興奮性ニューロンと抑制性ニューロンを簡易に同定するためにGABA作動性ニューロンにVenus蛍光タンパクを発現させた遺伝子改変ラット（VGAT-Venus発現ラット）を用いた。脳スライス標本を記録用チャンバーに静置し、標準人工脳脊髄液で灌流する。実体顕微鏡およびCCDカメラにて記録したいニューロンを同定する。この際に蛍光観察することでGABA作動性ニューロンが蛍光するため抑制性ニューロンの同定が容易となる。記録用ガラス電極にCl<sup>-</sup>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ニューロンにアプローチし、電極の先端がニューロンに達したら陽圧を解除しギガシールを形成する。その後、陰圧を付加し細胞膜を穿孔しホールセルを形成する。複数のニューロンから同時に記録し、シナプス結合が存在するニューロンペアを見つける。次にシナプス前ニューロンに脱分極性パルスを与えて活動電位を発生させる。この活動電位によって誘発した単一性興奮性シナプス後電流（EPSC）ならびに単一性抑制性シナプス後電流（IPSC）を記録し、その振幅がオレキシンの投与によりどのように変化したかを検討した。

**結果および考察：**

オレキシンにはオレキシンAとオレキシンBの2種類のイソペプチドが存在する。本研究ではまずオレキシンAについて検討した。

複数のニューロンより同時記録しシナプス結合をみつけ、EPSCまたはIPSCを誘発させ100 nMオレキシンAを投与する前後でその振幅の変化をみたところ、100 nMオレキシンAの投与によりFast spiking cell（FS）→Pyramidal cell（Pyr）におけるIPSCの振幅を増大させた。さらに300 nMオレキシン投与によるFS→PyrにおけるIPSCの振幅の変化を検討したところIPSC振幅を増加させた。このことによりオレキシンAによるFS→PyrにおけるIPSC振幅増加は濃度依存性がある可能性があることが示唆された。濃度依存性に関しては今後100 nM未満の濃度（1 nM,10nM）にてIPSCの振幅の変化を検討する必要がある。

次にオレキシン B の EPSC または IPSC への修復作用について検討するために 100 nM オレキシン B の投与による振幅の変化を検討した。100 nM オレキシン B の投与により FS → Pyr における IPSC の振幅も増加した。

これらの結果より摂食促進因子であるオレキシンは島皮質にて行われる味覚情報処理に対して抑制的に働いている可能性があると考えられる。

今後は EPSC に対するオレキシンの修飾作用の検討と、オレキシン A,B それぞれのアンタゴニストと共投与することによりオレキシンによって生じた IPSC の振幅増加がどの細胞内情報伝達経路を介して生じているかを検討する必要がある。

**成果発表：** (予定を含めて口頭発表, 学術雑誌など)