

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：63905

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2010～2014

課題番号：22126005

研究課題名（和文）脳におけるエネルギー感受機構と食餌嗜好性調節機構の解明

研究課題名（英文）Brain mechanism for energy sensing and food preference.

研究代表者

箕越 靖彦（Minokoshi, Yasuhiko）

生理学研究所・発達生理学研究室・教授

研究者番号：10200099

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 70,000,000 円

研究成果の概要（和文）：摂食行動の発現・調節機構を理解するためには、摂食に関わる神経回路網を明らかにするだけでなく、生体のエネルギーレベルを脳がどのように感受し、その情報を神経活動および摂食行動にどう変換するかを解明する必要がある。我々は、本研究において、室傍核CRHニューロンのAMPKが、絶食後の高炭水化物食と高脂肪食の食物選択行動を調節することをマウスを用いて見出した。室傍核CRHニューロンのAMPKが活性化することは、高炭水化物食の選択行動を引き起こす必要かつ十分であった。この実験結果は、生理学的、病態生理学的な食物選択行動の調節に室傍核CRHニューロンのAMPKが関与することを示す重要な発見である。

研究成果の概要（英文）：Food selection, which is essential to maintain metabolic homeostasis, is modulated by nutritional state, food palatability and social life events such as stress. Here we show that AMP-activated protein kinase (AMPK) in a subset of corticotropin-releasing hormone (CRH) positive neurons in the paraventricular hypothalamus (PVH) regulates selection between a high-carbohydrate diet (HCD) and a high-fat diet (HFD) in mice after fasting. Activation of AMPK in these CRH neurons was necessary and sufficient for mice to increase selection of a HCD and reduce that of a HFD. Our results thus provide important insight into the regulation of food selection behavior under physiological and pathological conditions.

研究分野：生理学

キーワード：摂食行動 視床下部 AMPK

1. 研究開始当初の背景

摂食行動の発現・調節機構を理解するためには、摂食に関わる神経回路網を明らかにするだけでなく、生体のエネルギーレベルを脳がどのように感受し、その情報を神経活動および摂食行動にどう変換するかを解明する必要がある。近年、我々の研究によって、AMP キナーゼ (AMPK) を中心とする代謝調節シグナルが、末梢組織だけでなく視床下部神経細胞においても新規エネルギー感受機構を構築しており、それらがホルモンや神経伝達物質、栄養素の制御を受けて摂食を調節することが明らかとなってきた (Minokoshi et al, Nature 2004)。しかし、AMPK が視床下部において摂食行動にどのような作用を及ぼし、またどのような機構によって摂食行動を調節しているかはほとんど分かっていない。我々は、視床下部 AMPK を室傍核ニューロンにおいて活性化させると、炭水化物食の選択が高まることを見出した。一方、脂肪食の選択は低下した。マウスを 1 日絶食させて室傍核 AMPK が活性化すると、その時も再摂食させると炭水化物食の選択が高まり、脂肪食の選択が低下した。

2. 研究の目的

摂食行動の研究は、これまで、摂食量を制御する神経回路の研究がほとんどであり、栄養素や生体のエネルギーレベルを生体がどのように感知し、またその情報をどのように統合して摂食行動を引き起こすかはほとんど明らかとなっていない。また食餌嗜好性が、脳においてどのように調節されているかも全く明らかとなっていない。そこで本研究では、(1) 室傍核の中でどのニューロンの AMPK が絶食によって活性化し、またどのような分子機構によって神経活動を変化させ、摂食行動、食餌嗜好性を変化させるかを明らかにする。(2) 肥満動物において、これらのエネルギー感受機構がどのように変化し、食物選択行動にどのような影響を及ぼすかを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) C57BL/6J 雄マウス (10-12 週齢) を用いた。また、一部のマウスには高脂肪食を与え、肥満させた動物を実験に用いた。食物選択行動を調べる実験では、高脂肪食と高炭水化物食を自由に摂取できる測定ケージを作成し、高脂肪食と高炭水化物食の摂取を 1 分毎に測定した。
(2) 一部のマウスの両側室傍核にカニューレを挿入し、活性化型 AMPK、AMPK に対する shRNA などを発現するレンチウイルスを接種した。また、CRH ニューロン選択的に Cre recombinase を発現するマウス (CRH-Cre マウス) とレンチウイルスを用いて、室傍核 CRH ニューロン選択的に活性化型 AMPK、あるいは AMPK に対する shRNA を発現させた。

4. 研究成果

(1) 視床下部室傍核ニューロンに活性化型 AMPK を発現させると、マウスは高炭水化物食を多く選択するようになった。これに対して高脂肪食の選択は有意に低下した。これと同様の効果は、視床下部室傍核ニューロンの AMPK が活性化する絶食後に、再摂食させると活性化型 AMPK と同様、高炭水化物食の選択が高まり、反対に高脂肪食の選択が低下した。そこで、室傍核に AMPK に対する shRNA を発現させ、絶食の効果調べた。その結果、AMPK に対する shRNA を発現させたマウスは、絶食後の再摂食においても高脂肪食を選択した。このことから、絶食により室傍核 AMPK が活性化し、その作用を介して炭水化物の選択が高まること明らかとなった。絶食後の再摂食において炭水化物食を選択する理由は、ケトン代謝を速やかに改善するためと考えられる。
(2) 室傍核ニューロンの中で、どのニューロンが食物選択行動に関与するかを明らかにするため、絶食と再摂食したマウスから脳を取り出し、組織学的に AMPK がどのニューロンで活性化するかを調べた。AMPK の活性化は Thr172 の特異的リン酸化抗体を用いて活性化の指標とした。その結果、絶食により、一部の CRH ニューロンにおいて AMPK が活性化することが分かった。
(3) 室傍核ニューロンの中で、どのニューロンが食物選択行動に関与するかを明らかにするため、CRH-Cre マウスとレンチウイルスを用いて、室傍核 CRH ニューロン選択的に活性化型 AMPK、あるいは AMPK に対する shRNA を発現させた。その結果、CRH ニューロン選択的に活性化型 AMPK を発現すると、絶食後の再摂食と同様、高炭水化物食の選択が高まり、反対に高脂肪食の選択が低下した。また、CRH ニューロンの AMPK 活性を shRNA によって抑制すると、絶食後の再摂食においても高脂肪食を選択した。以上の結果、絶食後の再摂食において引き起こされる炭水化物食の摂取は、室傍核 CRH ニューロンの AMPK を介することが示唆される。
(4) 高脂肪食を摂取させ肥満したマウス (DIO マウス) において、食物選択行動がどのように変化しているかを調べた。その結果、DIO マウスは、絶食後の再摂食においても高脂肪食を摂取した。また、室傍核 AMPK も絶食によって活性化しなかった。また、CRH mRNA の発現も有意に低下していた。
(5) AMPK が CRH ニューロンに対してどのような作用を及ぼすかを明らかにする目的で、CRH ニューロンを単離し、AMPK 活性化剤である AICAR を作用させた時の細胞質内カルシウム濃度 $[Ca^{2+}]_i$ の変化を調べた。その結果、AICAR は約 3 分の 2 の CRH ニューロンにおいて $[Ca^{2+}]_i$ を上昇させた。AMPK に対する shRNA を発現させた CRH ニューロンでは AICAR によって $[Ca^{2+}]_i$ は変化しなかった。

(6) 以上の実験結果から、室傍核 CRH ニューロンの一部は、AMPK を介して炭水化物食と高脂肪食の選択行動を制御すると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 19 件)

Tabuchi S, Tsunematsu T, Black SW, Tominaga M, Maruyama M, Takagi K, Minokoshi Y, Sakurai T, Kilduff TS, Yamanaka A. Conditional ablation of orexin/hypocretin neurons: a new mouse model for the study of narcolepsy and orexin system function. *J Neurosci*, 2014, 34: 6495-6509. 査読有

doi:10.1523/JNEUROSCI.0073-14.2014

Sasaki T, Kikuchi O, Shimpuku M, Susanti VY, Yokota-Hashimoto H, Taguchi R, Shibusawa N, Sato T, Tang L, Amano K, Kitazumi T, Kuroko M, Fujita Y, Maruyama J, Lee YS, Kobayashi M, Nakagawa T, Minokoshi Y, Harada A, Yamada M, Kitamura T. Hypothalamic SIRT1 prevents age-associated weight gain by improving leptin sensitivity in mice. *Diabetologia* 2014, 57: 819-831. 査読有

doi:10.1007/s00125-013-3140-5

Toda C, Shiuchi T, Kageyama H, Okamoto S, Coutinho EA, Sato T, Okamoto-Ogura Y, Yokota S, Takagi K, Tang L, Saito K, Shioda S, Minokoshi Y. Extracellular signal-regulated kinase in the ventromedial hypothalamus mediates leptin-induced glucose uptake in red-type skeletal muscle. *Diabetes* 2013, 62: 2295-2307. 査読有

doi:10.2337/db12-1629

Minokoshi Y, Toda C, Okamoto S. Regulatory role of leptin in glucose and lipid metabolism in skeletal muscle. *Indian J Endocrinol Metab* 2012, 16: S562-S568. 査読有

doi:10.4103/2230-8210.105573

Ogawa N, Ito M, Yamaguchi H, Shiuchi T, Okamoto S, Wakitani K, Minokoshi Y, Nakazato M. Intestinal fatty acid infusion modulates food preference as well as calorie intake via the vagal nerve and midbrain - hypothalamic neural pathways in rats. *Metabolism* 2012, 61: 1312-1320. 査読有

doi:10.1016/j.metabol.2012.02.011

Cao Y, Nakata M, Okamoto S, Takano E, Yada T, Minokoshi Y, Hirata Y, Nakajima K, Iskandar K, Hayashi Y, Ogawa W, Barsh GS, Hosoda H, Kangawa K, Itoh H, Noda T, Kasuga M, Nakae J. PDK1-Foxo1 in Agouti-related peptide neurons regulates energy homeostasis by modulating food intake and energy expenditure. *PLoS ONE* 2011, 6: e18324. 査読有

doi:10.1371/journal.pone.0018324

Hoivik EA, Bjanesoy TE, Mai O, Shima Y, Okamoto S, Minokoshi Y, Morohashi K, Boehm U, Bakke M. DNA methylation of intronic enhancers directs tissue-specific expression of steroidogenic factor 1/adrenal 4 binding protein (SF-1/Ad4BP). *Endocrinology* 2011, 152: 2100-2112. 査読有

doi:10.1210/en.2010-1305

Saito K, Lee S, Shiuchi T, Toda C, Kamijo M, Inagaki-Ohara K, Okamoto S, Minokoshi Y. An enzymatic photometric assay for 2-deoxyglucose uptake in insulin-responsive tissues and 3T3-L1 adipocytes. *Anal Biochem* 2011, 412: 9-17. 査読有

doi:10.1016/j.ab.2011.01.022

Misu H, Takamura T, Takayama H, Hayashi H, Matsuzawa-Nagata N, Kurita S, Ishikura K, Ando H, Takeshita Y, Ota T, Sakurai M, Yamashita T, Mizukoshi E, Yamashita T, Honda M, Miyamoto K, Kubota T, Kubota N, Kadowaki T, Kim H-J, Lee I-K, Minokoshi Y, Saito Y, Takahashi K, Yamada Y, Takakura N, Kaneko S. A liver-derived secretory protein, Selenoprotein P, causes insulin resistance. *Cell Metab* 2010, 12: 483-495. 査読有

doi: 10.1016/j.cmet.2010.09.015

Sasaki T, Kim HJ, Kobayashi M, Kitamura YI, Yokota-Hashimoto H, Shiuchi T, Minokoshi Y, Kitamura T. Induction of hypothalamic Sirt1 leads to cessation of feeding via agouti-related peptide. *Endocrinology* 2010, 151: 2556-2566. 査読有

doi:10.1210/en.2009-1319

[学会発表] (計 45 件)

箕越靖彦、視床下部 AMPK によるエネルギー感受機構と食物選択行動、第 88 回日本内分泌学会学術総会、教育講演、ホテルニューオータニ、東京都

千代田区、2015年4月23-25日
箕越靖彦、視床下部 AMPK によるエネルギー感受機構と食物選択行動、Area Diabetes Forum DM Specialists in 中国・四国、特別講演、岡山口イアルホテル、岡山県岡山市、2015年3月7日
岡本土毅、箕越靖彦、視床下部室傍核 AMPK による食物選択行動の調節機構、第29回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会、京都大学医学部芝蘭会館、京都府京都市、2015年2月13-14日
Yasuhiko Minokoshi, Regulatory role of hypothalamic AMPK in food selection behavior. Current Trends in Biomedical Science, Invited, Korea University College of Medicine, Seoul, South Korea, January 29-30, 2015
Yasuhiko Minokoshi, Regulatory role of hypothalamic AMP-activated protein kinase (AMPK) in food selection behavior. 18th Thai Neuroscience Society Conference 2014 & 2nd Joint CU-NIPS Symposium, Invited, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, December 21-23, 2014
Yasuhiko Minokoshi, AMPK-activated protein kinase in CRH neurons in the PVH controls food selection behavior. International Symposium for the Study of Obesity, Phoenix Seagaia Resort Convention Center, Miyazaki, Miyazaki, October 26, 2014
岡本土毅、箕越靖彦、視床下部 AMPK による食物嗜好性の調節機構、第35回日本肥満学会、シンポジウム、シーガイアコンベンションセンター、宮崎県宮崎市、2014年10月24-25日
箕越靖彦、体の恒常性を司る脳 - 肥満とやせの不思議を探る、生理学研究所一般公開2014、2014、岡崎カンファレンスセンター、愛知県岡崎市、2014年10月4日
箕越靖彦、視床下部 AMPK によるエネルギー感受機構と食物選択行動、第24回内分泌代謝セミナー、特別講演、滋賀医科大学、滋賀県大津市、2014年7月24日

箕越靖彦、視床下部室傍核 AMPK による摂食調節機構、第32回内分泌代謝学サマーセミナー、河口湖富士レークホテル、山梨県南都留郡、2014年7月10-12日
箕越靖彦、岡本土毅、A role of hypothalamic AMPK in food selection behavior. 第11回インスリン抵抗性とメタボリックシンドローム研究会、ハイアットリージェンシー東京、東京都新宿区、2014年7月5-6日
Shiki Okamoto, Yasuhiko Minokoshi, AMPK in the paraventricular hypothalamus regulates food selection behavior in mice. 2014 NIPS-KY/YU Symposium, 2014, Okazaki Conference Center, Okazaki, Aichi, July 1-2, 2014
Shiki Okamoto, Yasuhiko Minokoshi, AMPK in the paraventricular hypothalamus regulates food selection behavior in mice. The 91th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, Kagoshima University, Kagoshima, Kagoshima, March 16-18, 2014
岡本土毅、箕越靖彦、AMPK による食物嗜好性の調節機構、第34回日本肥満学会、シンポジウム、東京国際フォーラム、東京都千代田区、2013年10月11-12日
Shiki Okamoto, Yasuhiko Minokoshi, AMPK in the paraventricular hypothalamus regulates food selection behavior in mice. 36th Naito Conference Molecular aspects of energy balance and feeding behavior, Chateraise Gateaux Kingdom Sapporo, Sapporo, Hokkaido, Sep 10-13, 2013
Yasuhiko Minokoshi, Shiki Okamoto, Regulatory role of hypothalamic AMP-activated protein kinase in feeding behavior. 36th Naito Conference Molecular aspects of energy balance and feeding behavior, Invited, Chateraise Gateaux Kingdom Sapporo, Sapporo, Hokkaido, Sep 10-13, 2013
箕越靖彦、岡本土毅、中枢における食物選択調節機構の解明と治療への応用可能性、第31回日本肥満症治療学

会学術集会、シンポジウム、学術総合センター、東京都千代田区、2013年6月28-29日

箕越靖彦、岡本土毅、視床下部 AMPK による摂食調節機構、第 67 回日本栄養・食糧学会大会、シンポジウム、名古屋大学、愛知県名古屋市、2013年5月24-26日

Yasuhiko Minokoshi, Shiki Okamoto, Role of hypothalamic AMPK in feeding behavior. 2013 Seoul International Congress of Endocrinology and Metabolism, Invited, Grand Hilton Hotel, Seoul, Korea, May 2-4, 2013

箕越靖彦、岡本土毅、視床下部室傍核 AMPK による食物嗜好性調節機構、第 27 回日本糖尿病・肥満動物学会、シンポジウム、JA 共催ビルカンファレンスホール、東京都千代田区、2013年2月22-23日

⑳ 箕越靖彦、岡本土毅、視床下部 AMPK による摂食調節機構、第 9 回宮崎サイエンスキャンプ、シーガイアコンベンションセンター、宮崎県宮崎市、2013年2月15-17日

㉑ 箕越靖彦、岡本土毅、視床下部 AMPK による摂食調節機構、大阪大学蛋白質研究所セミナー「エネルギー代謝制御の分子機構」、大阪大学蛋白質研究所、大阪府吹田市、2012年11月29、30日

㉒ Yasuhiko Minokoshi, Shiki Okamoto, Regulatory role of hypothalamic AMPK in feeding behavior. International Symposium for the Study of Obesity “Translational Science and Epidemiology on Adipomedicines; From Lipodystrophy to Obesity”, Invited, Shiran Kaikan of Kyoto University, Kyoto, Kyoto, Oct 13-14, 2012

㉓ 岡本土毅、箕越靖彦、C57BL/6J と BALB/c マウスの食餌嗜好性に及ぼす視床下部室傍核 AMPK の調節作用、第 33 回日本肥満学会、ホテルグランビア京都、京都府京都市、2012年10月11、12日

㉔ Yasuhiko Minokoshi, Shiki Okamoto, Regulatory role of hypothalamic AMPK in feeding behavior. The 3rd Meeting of the Japan Branch of the International Neuropeptide Society

(INPS), Invited, Kitakyushu International Conference Center and AIM Building (West Japan General Exhibition Center, Kitakyushu, Fukuoka, Sep 29-30, 2012

㉕ 箕越靖彦、視床下部 AMPK による摂食調節機構、第 1 回糖尿病治療の新時代～基礎と臨床を学ぶ～、特別講演、ウエスティンホテル大阪、大阪府大阪市、2012年7月6日

㉖ Shiki Okamoto, Yasuhiko Minokoshi, AMP-kinase in the paraventricular hypothalamus regulates food selection behavior in mice. The 89th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, Symposium, Matsumoto Bunka Kaikan, Matsumoto, Nagano, Japan, March 29-31, 2012

㉗ 箕越靖彦、視床下部 AMPK による摂食調節機構、第 38 回近畿小児科内分泌研究会、特別講演、ハービス大阪、大阪府大阪市、2012年3月3日

㉘ 箕越靖彦、視床下部 AMPK による摂食調節機構、第 3 回 Cell Metabolism & Communication Conference、特別講演、トップオブザスクエア、東京都千代田区、2012年2月4日

㉙ 岡本土毅、箕越靖彦、食餌嗜好性に及ぼす視床下部室傍核 CRH ニューロンの AMP キナーゼ調節作用、第 32 回日本肥満学会、シンポジウム「摂食・エネルギー代謝調節」、淡路夢舞台国際会議場、兵庫県淡路市、2011年9月23-24日

㉚ 箕越靖彦、食から肥満とやせのなぞを探る～摂食と代謝調節の脳内機構～、第 58 回日本栄養改善学会学術総会、教育講演、広島国際会議場、広島県広島市、2011年9月8-10日

㉛ 箕越靖彦、視床下部 AMP キナーゼによる摂食調節機構、日本分子生物学会第 10 回春季シンポジウム、石川県立音楽堂交流ホール、石川県金沢市、2011年5月25-26日

㉜ Yasuhiko Minokoshi, Shiki Okamoto, Regulatory role of hypothalamic AMP-kinase in calorie intake and food preference. The FASEB Summer Research Conference. “AMPK: Central Regulatory System

in Metabolism & Growth”, Otsu Prince Hotel, Otsu, Siga, Japan, October 3-8, 2010

- ③④ 岡本土毅、箕越靖彦、肥満マウスの食餌嗜好性に及ぼす視床下部室傍核 AMP キナーゼの調節作用、第 31 回日本肥満学会、シンポジウム、前橋テルサ、群馬県前橋市、2010 年 10 月 1-2 日
- ③⑤ Shiki Okamoto, Yasuhiko Minokoshi, Regulatory role of AMP-kinase in the paraventricular hypothalamus in calorie intake and food preference. 11th International Congress on Obesity. Satellite Symposium “Regulation of feeding and energy metabolism by the brain”, Oral, Clarion Hotel, Stockholm, Sweden, July 10, 2010
- ③⑥ Yasuhiko Minokoshi, Shiki Okamoto, Role of the paraventricular hypothalamic AMP kinase in food selection behavior. The 87th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, Morioka Shimin-Bunka Hole, Morioka, Iwate, May 19-21, 2010
- ③⑦ 箕越靖彦、摂食・代謝調節の脳内機構と栄養環境との相互作用 脳科学研究教育センターシンポジウム「生涯にわたる心身の恒常性維持とその破綻のメカニズムに関する総合的研究」、北海道大学、北海道札幌市、2010 年 4 月 7-8 日

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.nips.ac.jp/research/group/post-16/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

箕越 靖彦 (Minokoshi, Yasuhiko)
生理学研究所・発達生理学研究室・教授
研究者番号：10200099

(2) 連携研究者

岡本 士毅 (Okamoto, Shiki)
生理学研究所・発達生理学研究室・助教
研究者番号：40342919

志内 哲也 (Shiuchi, Tetsuya)
生理学研究所・発達生理学研究室・助教
研究者番号：70372729

(平成 22 年 10 月まで連携研究者)