

令和元年6月6日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K01835

研究課題名(和文) 視床下部VMHリズムバースト活動発生の細胞機構と生体における役割の解明

研究課題名(英文) Cellular mechanisms of the VMH rhythmic burst generation in the hypothalamus and the physiological role

研究代表者

飯ヶ谷 嘉門 (Iigaya, Kamon)

昭和大学・医学部・兼任講師

研究者番号：80445204

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：視床下部腹内側核(VMH)は摂食行動と交感神経(SNA)に重要な役割を果たしており、リズム神経バースト活動(VMHオシレーション)を発生する。本研究では摂食関連ペプチドのVMHオシレーションに対する影響を調べた。その結果、VMHオシレーションを1)促進するもの：オレキシン、CRF、インスリン、PACAPあるいは2)抑制するもの：ガラニン、グレリン、NPY、CART、CCK、レプチンに分けられた。前者のペプチドの脳内投与は交感神経活動を亢進し、後者はそれを抑制する傾向があることから、神経ペプチドの交感神経に対する作用がVMHオシレーションを介して起こる可能性に矛盾しない結果であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低血糖から回復遅延や褐色脂肪細胞からの熱産生は、視床下部の腹内側核(VMH)を介した交感神経が調節していると考えられている。私どもが新たに発見したVMHのバーストリズムは、グルコース濃度や摂食ペプチドによってバースト頻度が変化することが確認された。さらにそのバースト頻度は交感神経活動に影響していることが証明された。したがって、このバーストリズムへの人為的な介入が、低血糖や肥満の改善の研究につながると期待できる。

研究成果の概要(英文)：The ventromedial hypothalamus (VMH) plays an important role in feeding behavior and sympathetic nerve activity. The VMH expresses various receptors of the peptides related to feeding. In the present study, we examined the effects of feeding-related peptides on the burst-generating property of the VMH. Superfusion with insulin, pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide, corticotropin-releasing factor and orexin increased the frequency of the VMH oscillation. In contrast, superfusion with leptin, cholecystokinin, cocaine- and amphetamine-regulated transcript, galanin, ghrelin and neuropeptide Y decreased the frequency of the oscillation. Our findings indicated that the frequency changes of VMH oscillation in response to the application of feeding-related peptides showed a tendency similar to changes of sympathetic nerve activity in response to the application of these substances to the brain.

研究分野：神経内分泌学

キーワード：肥満 低血糖 交感神経 電気生理学 視床下部腹内側核 摂食ペプチド

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

肥満はメタボリックシンドロームの根幹をなし、後の心血管イベントの発生に深く関わり医療費の高騰や人類の生命を脅かす医療上の大きな問題である (Gustafson B et.al, 2007)。肥満は交感神経と摂食によって大きく影響される。視床下部は摂食と交感神経を介してエネルギー調節を行っている重要な領域である (Abizaid A et.al, 2008)。中でも視床下部腹内側核 (VMH) は、電気破壊すると過食から肥満になり、逆に電気刺激すると交感神経活動 (SNA) を介して血圧、心拍数、血糖、肝での糖新生の亢進を起こすことから、摂食と SNA にかかわる重要な領域であることがわかっている (Shimazu T et.al, 1981)。VMH の一部のニューロンはグルコース感受性ニューロンであり、さらにグルコース興奮性ニューロンとグルコース抑制性ニューロンがある (Song Z et.al 2001)。現在まで、知られている VMH グルコース感受性ニューロンの発火のパターンは持続発火のパターンである (Watts A.G et.al, 2009)。またこのグルコース感受性ニューロンが交感神経に関連しているかについてはわかっていない。VMH にはインスリン、NPY (Y5)、オレキシン (OX1)、ガラニン、グレリン、ノルアドレナリン、CART、CCK-A and CRF2 など様々な摂食関連ペプチドの受容体が存在するが、これらの摂食関連ペプチドがグルコース感受性ニューロンの活動に影響を及ぼしているかどうかについては不明である

### 2. 研究の目的

今回、我々はラット視床下部スライス標本から VMH にリズムミックバースト活動 (Oscillation) を示すニューロングループを発見した。そこで、この Oscillation を示すニューロンにグルコース感受性があるかどうか、またこの Oscillation が SNA に影響を及ぼしている可能性があるかどうか、また摂食関連ペプチドに影響を受けるかどうかを検証した。

### 3. 研究の方法

#### (1) 動物、標本、灌流液

生後 5-14 日の Wistar rat から 0.5 mm の視床下部スライス標本を作製した。標本をグルコース 10mM 濃度の脳脊髄液で灌流した (pH7.4, NaCl 124, KCl 5.0, CaCl<sub>2</sub> 1.3, MgCl<sub>2</sub> 25, NaHCO<sub>3</sub> 25, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, D-Glucose 10 in mmol/L)。いくつかの実験では、下大動脈から脳脊髄液を灌流して中枢及び末梢神経系の活動を記録できる in situ 動脈灌流標本を用いた。

#### (2) 光学測定法 (Optical imaging)

視床下部スライス標本を膜電位色素感受性色素 Di2-ANEPEQ 50 µg/ml で染色した。VMH 領域の神経活動を光学測定装置 MiCAM02 で観察した。

#### (3) 電気生理学の実験

光学測定法で行った別の標本を用いて VMH にガラス電極を刺入し field potential と whole cell patch clamp 法を用いて単独あるいは同時記録を行いながら神経活動を記録した。

#### (4) 摂食ペプチドによる VMH の電気活動の変化

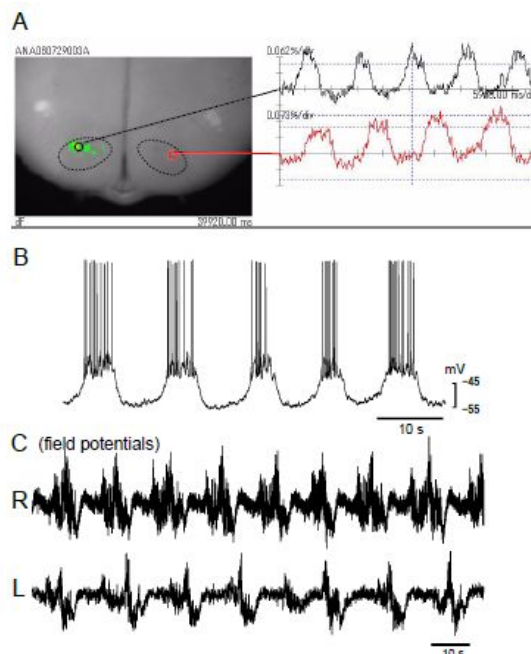
光学測定法あるいは電気生理学の実験で神経活動を記録した後、脳脊髄液のグルコース濃度を 10mM から 0.16、2、4.5mM に変更しグルコース感受性の有無および変化を記録した。グルコース感受性を確認した後、摂食にかかわる種々の神経ペプチド (Orexin、Insulin、CRF、PACAP、Galanin、Ghrelin、Leptin、Isoproterenol、CCK、CART、NPY) を灌流し神経活動の変化を記録した。

### 4. 研究成果

#### (1) 両側の VMH における新規 Oscillation の発見

10mM グルコース濃度の人工脳脊髄液灌流下で、光学測定を行ったところ、視床下部スライス標本内の左右の VMH に新規リズムミックバースト (Oscillation) を発見した (図 1A)。この VMH oscillation の周波数は右  $0.068 \pm 0.010$  Hz、左  $0.066 \pm 0.011$  Hz (それぞれ n=11) だった。また左右の位相は完全に異なっていた。

光学測定で認められた VMH の自発発火による oscillation の、電気生理学的性質を調べるため細胞外および細胞内記録をおこなった。フィールドポテンシャルによる細胞外記録でも同様に VMH に oscillation を認めた。左右の VMH の oscillation の周波数は右  $0.063 \pm 0.016$  Hz (n=25)、左  $0.063 \pm 0.018$  Hz (n=25) と完全に一致したが、左右の位相は異なっており、これらの結果は光学測定で得られた結果と一致する結果だった。(図 1C)。またこの細胞外記録の電極の近傍に細胞内記録用の電極を刺入し、ホールセルパッチクランプを行うと、細胞外記録で得られた oscillation と同調する oscillation が認められた (n=20) (図 1B)。このニューロンの膜電位は  $-44.2 \pm 21.7$  mV、



周波数  $0.069 \pm 0.019$  Hz、膜抵抗  $728 \pm 418$  M だった。外科的に VMH を孤立させた状態で光学測定を行っても、VMH oscillation は残存したため、この VMH oscillation は VMH 自身から自発的に発生していると考えられた。また VMH oscillation に性差は認められなかった。VMH oscillation の周波数は心拍変動の低周波数成分 (Low frequency: LF) と類似しており、LF は交感神経成分であることから VMH oscillation は交感神経に關与している可能性が考えられた。

### (2) 新規 VMH oscillation と交感神経の相関

生体における心拍変動から得られる低周波数成分 (0.04-0.1Hz) は交感神経と相同すると考えられている。本研究で得られた VMH oscillation の周波数は 0.063Hz であった。

この結果から VMH oscillation は交感神経活動に影響を及ぼしている可能性が考えられた。

そのため、in situ ラット動脈灌流標本から VMH oscillation と交感神経幹の電気活動を同時記録し、パワースペクトル解析を行ったところ低周波成分のピーク値がほぼ近似していることを発見した。さらに、VMH oscillation をガラニンで抑制すると、交感神経幹の低周波変動も減弱した。これらの結果から、VMH oscillation は交感神経の低周波成分の発現に關与していることが示唆された。

以上の結果を 2017 年 Neuroscience 誌に

「Interaction between novel oscillation within the ventromedial hypothalamus and the sympathetic nervous system.」として論文報告した。

この論文から、新規 VMH oscillation はグルコース感受性があること、交感神経出力に影響を与えていることが証明された。

### (3) 摂食関連ペプチドによる VMH oscillation の電気活動の変化

摂食にかかわる種々の神経ペプチド(オレキシン、インスリン、CRF、PACAP、ガラニン、グレリン、レプチン、CCK、CART、NPY)を VMH に灌流した。オレキシン、インスリン、CRF、PACAP を灌流すると VMH oscillation は促進し、一方ガラニン、グレリン、レプチン、CCK、CART、NPY を灌流すると VMH oscillation は抑制された (Table 1)。この結果は、現在までに報告されている脳への摂食関連ペプチド投与による交感神経活動の変化と一致した。これらの結果を 2019 年 Journal of Clinical Medicine に「Effects of Feeding-Related Peptides on Neuronal Oscillation in the Ventromedial Hypothalamus.」として論文報告した。

#### 【参考文献】

Gustafson, B., Hammarstedt, A., Andersson, C.X. & Smith, U. Inflamed adipose tissue: a culprit underlying the metabolic syndrome and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 27, 2276-2283 (2007).  
 Abizaid, A. & Horvath, T.L. Brain circuits regulating energy homeostasis. *Regul Pept* 149, 3-10 (2008).  
 Shimazu, T. & Ishikawa, K. Modulation by the hypothalamus of glucagon and insulin secretion in rabbits: studies with electrical and chemical stimulations. *Endocrinology* 108, 605-611 (1981).  
 Song, Z., Levin, B.E., McArdle, J.J., Bakhos, N. & Routh, V.H. Convergence of pre- and postsynaptic influences on glucosensing neurons in the ventromedial hypothalamic nucleus. *Diabetes* 50, 2673-2681 (2001).

Watts, A.G. & Donovan, C.M. Sweet talk in the brain: glucosensing, neural networks, and hypoglycemic counterregulation. *Front Neuroendocrinol* 31, 32-43 (2009).

Chan, O. & Sherwin, R. Influence of VMH fuel sensing on hypoglycemic responses. *Trends Endocrinol Metab* 24, 616-624 (2013)

Bray, G.A. Obesity, a disorder of nutrient partitioning: the MONA LISA hypothesis. *J Nutr* 121, 1146-1162 (1991).

### 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

1. **ligaya K, Minoura Y, Onimaru H, Kotani S, Izumizaki M.** Effects of Feeding-Related Peptides on Neuronal Oscillation in the Ventromedial Hypothalamus. *J Clin Med*. 8, 2019. 査読あり

2. **Minoura Y, Onimaru H, ligaya K, Kobayashi Y.** Modulation of sympathetic preganglionic neuron activity via adrenergic receptors. *Hypertens Res*. 41,499-505, 2018. 査読あり

Table 1

	摂食	交感神経活動	VMH oscillation
低濃度			
グルコース	促進		
オレキシン		興奮	促進
CRF			
PACAP	抑制		
インスリン			
高濃度			
グルコース	抑制		
ガラニン		抑制	
グレリン	促進		抑制
NPY			
CCK		抑制 or 興奮	
CART	抑制		
レプチン		興奮	

3. **Oyama Y, ligaya K, Minoura Y, Okabe T, Izumizaki M, Onimaru H.**  
An in vitro experimental model for analysis of central control of sympathetic nerve activity.  
J Physiol Sci. 67, 629-635, 2017. 査読あり
4. **Tsuzuki I, ligaya K, Matsubara T, Takagi S, Inohara T, Ohgino Y, Imafuku T.**  
Platypnea-orthodeoxia syndrome in the right lateral decubitus position: a case report.  
J Med Case Rep. 11, 2017. 査読あり
5. **ligaya K, Okazaki S, Minoura Y, Onimaru H.**  
Interaction between novel oscillation within the ventromedial hypothalamus and the sympathetic nervous system.  
Neuroscience. 343, 213-221, 2017. 査読あり

〔学会発表〕(計 11 件)

1. **山崎拓也, 飯ヶ谷嘉門, 唐澤隆明, 侯金成, 小杉将太郎, 鳥光拓人, 増井健太郎, 今福俊夫**  
術後に起立性低血圧が遷延した褐色細胞腫の1例 第19回日本内分泌学会関東甲信越支部学術集会 2018年9月8日 東京
2. **飯ヶ谷嘉門, 清水隆之, 高岡真梨子, 賀嶋さおり, 唐澤隆明, 侯金成, 今福俊夫**  
維持血液透析経過中に後天性血友病Aを発症した1例 第63回日本透析医学会学術集会・総会 2018年6月29日 神戸
3. **朝比奈泰彦, 飯ヶ谷嘉門, 侯金成, 唐澤隆明, 今福俊夫**  
含糖酸化鉄投与によりFGF23関連低リン血症を呈した1例 第18回日本内分泌学会関東甲信越支部学術集会 2017年9月9日 高崎
4. **Kamon ligaya, Shuntaro Okazaki, Yoshino Minoura, Hiroshi Onimaru** Interaction between novel oscillation within the ventromedial hypothalamus and the sympathetic nervous system 38th World Congress of the International Union of Physiological Sciences 2017年8月2日  
リオデジャネイロ
5. **飯ヶ谷嘉門, 侯金成, 唐澤隆明, 今福俊夫, 福島彩乃, 塩味由紀, 藤尾由美, 木花いづみ**  
血漿交換を必要としたビルダグリプチンによる水疱性類天疱瘡の1例 第62回日本透析医学会学術集会・総会 2017年6月17日 横浜
6. **都築一平, 飯ヶ谷嘉門, 松原隆, 高木俊介, 扇野泰行, 猪原拓, 今福俊夫** 右側臥位により低酸素血症を呈する Platypnea-Orthodeoxia syndrome の一例 第114回日本内科学会総会・講演会 2017年4月15日 東京
7. **Kamon ligaya, Hiroshi Onimaru**  
Interaction Between Novel Oscillation Within the Ventromedial Hypothalamus and the Sympathetic Nervous System The 36th annual meeting of the Australasian Neuroscience Society. 2016年12月6日 Hobart
8. **Kamon ligaya, Marohito Murakami, Kaori Kanbe, Takashi Araki** Successful treatment of severe Dengue hemorrhagic fever(DHF) using plasma exchange 34th Congress of the International society of Blood Purification 2016年9月9日 Hiroshima
9. **Kamon ligaya, Hiroshi Onimaru** The interaction between novel oscillation within the ventromedial hypothalamus and the sympathetic nervous system. 第39回日本神経科学大会 2016年7月20日 横浜
10. **飯ヶ谷嘉門, 唐澤隆明, 侯金成, 吉村公一郎, 今福俊夫** 新規不眠症治療薬であるスポレキサントは交感神経抑制を介して降圧効果を示す 第5回臨床高血圧フォーラム 2016年5月15日 東京
11. **飯ヶ谷嘉門, 鬼丸洋** 視床下部腹内側核における新規リズムと交感神経活動 第88回日本内分泌学会学術総会 2015年4月23日 東京

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：鬼丸 洋

ローマ字氏名：Onimaru Hiroshi

所属研究機関名：昭和大学医学部

部局名：生理学講座生体調節機能学部門

職名：客員教授

研究者番号（8桁）：30177258

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。