

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：12301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19504

研究課題名(和文) 視床下部Sirt1とドパミンシグナルによる脂質嗜好性制御機構の解明

研究課題名(英文) SIRT1 in the central nervous system regulates food preference

研究代表者

松居 翔 (Matsui, Sho)

群馬大学・生体調節研究所・研究員

研究者番号：80739673

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)：中枢性SIRT1による食餌嗜好性制御機構を検討した。食餌選択試験では、神経特異的SIRT1過剰発現マウスは、高脂肪食摂食量の増加、高シヨ糖食摂食量の減少を示した。他方、神経特異的SIRT1ノックアウトマウスは、高脂肪食摂食量の減少、高シヨ糖食摂食量の増加を示した。遺伝子発現解析では、神経特異的SIRT1過剰発現マウスの視床下部で、Tyrosine hydroxylaseの発現が抑制され、オキシトシンの発現が増加した。他方、神経特異的SIRT1ノックアウトマウスでは逆の効果が得られた。これらのことから、中枢性SIRT1はドパミンとオキシトシンシグナルを介して食餌嗜好性を調節することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In order to address the role of SIRT1 in the food preference regulation, we either over-expressed or knocked-out SIRT1 in all neurons by crossing Tau-Cre mice with either Rosa26-Sirt1 mice or Sirt1-flox mice, and measured their food preference. SIRT1 overexpression increased preference for high-fat diet, whereas SIRT1 knock-out increased preference for high-sucrose diet. Expression analysis of hypothalamus of these mice revealed that SIRT1 overexpression suppressed the expression of tyrosine hydroxylase (Th) and increased the expression of oxytocin (Oxt). Next, we either overexpressed or knocked-down SIRT1 in hypothalamic cells and checked the effect on the expressions of Th and Oxt. We found that SIRT1 regulates the expression of these genes accordingly. Dopamine system promotes preference for fat, whereas Oxt suppresses preference for carbohydrate. Therefore, the neuronal SIRT1 may regulate food preference through the modulation of dopamine and Oxt system.

研究分野：分子栄養学

キーワード：SIRT1 Tyrosine hydroxylase オキシトシン 脂質 炭水化物 食餌嗜好性

1. 研究開始当初の背景

日本を含めた先進諸国においては、過食による生活習慣病の発症が深刻な問題となっている。食事療法は、生活習慣病の有効な治療法であることが知られているが、患者のコンプライアンスが低いことが問題となっている。その要因の一つとして、食の嗜好性・報酬性がある。食成分の中で、特に糖分や脂肪分が生活習慣病の元凶であるため、糖や脂質への嗜好性メカニズムの解明をとおり、患者が遵守できる肥満の是正の新たな治療戦略が必要である。

長寿遺伝子 SIRT1 は、NAD⁺依存性の脱アセチル化酵素で、カロリー制限という食餌療法の健康長寿効果を担う分子の一つである。これまでに当研究室では、エネルギーバランス制御に重要な視床下部弓状核のメラノコルチン系ニューロン (Proopiomelanocortin ニューロンと Agouti-related protein ニューロン) での SIRT1 のコンディショナルノックインマウスの解析から、以下のことを解明してきた (Susanti VY et al. Obesity. 2014 ; Sasaki T et al. Diabetologia. 2014)。 (a) 視床下部の SIRT1 は、摂食抑制、エネルギー消費増加により体重を減らす作用がある。 (b) 視床下部の SIRT1 は、レプチン感受性やインスリン感受性を改善する。 (c) 視床下部の SIRT1 過剰発現は、加齢性の肥満抵抗性を示す。 (d) 高脂肪高シヨ糖食摂取後、視床下部弓状核 SIRT1 の機能は抑制される。これらの解析から、SIRT1 の摂食・エネルギー消費調節機構については明らかになりつつあるが、SIRT1 の食餌嗜好性への影響は不明である。

2. 研究の目的

本研究では、中枢における SIRT1 の食餌嗜好性制御メカニズムの解明を目的とする。

3. 研究の方法

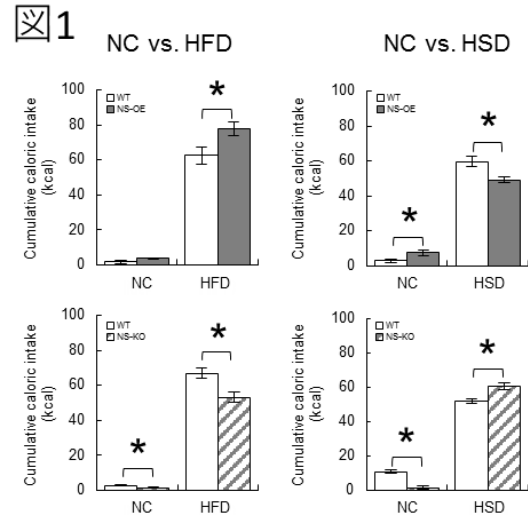
(a) 神経細胞特異的な Cre マウスである Tau-Cre マウスと Sirt1-flox マウスをおよび Rosa26-Sirt1 マウスを掛け合わせ、神経細胞での SIRT1 量を 0、1、2 にしたマウスを作製する (Tau-Cre; Rosa26^{Sirt1}/+ ノックインマウスの視床下部弓状核の SIRT1 タンパク量は、野生型の約 2 倍)。これらの神経特異的 SIRT1 過剰発現 (NS-OE)、ノックアウトマウス (NS-KO) マウスを用い、普通食 vs. 高脂肪食、および普通食 vs. 高シヨ糖食の条件で、脂質嗜好性およびシヨ糖嗜好性を測定する。

(b) NS-OE および NS-KO マウスの視床下部の Tyrosine hydroxylase (*Th*)、Oxytocin (*Oxt*) の遺伝子発現量を調べる。視床下部細胞株 N41 と SIRT1 アデノウイルスおよび SIRT1 ノックダウン N41 細胞を用いて、*Th* と *Oxt* の遺伝子発現量を調べる。

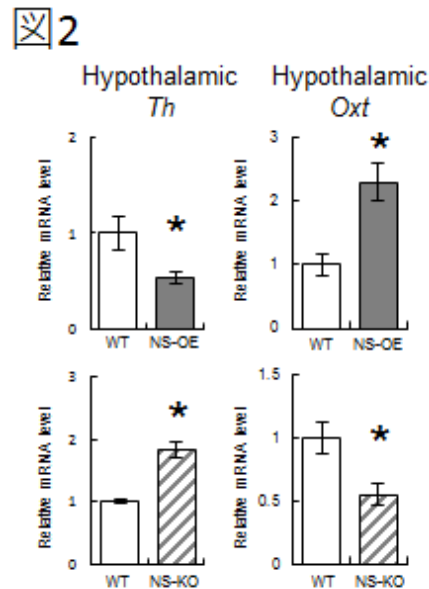
(c) 視床下部細胞株 N41 を用いて、SIRT1 による *Th*、*Oxt* プロモーター活性をルシフェラーゼアッセイ法により調べる。

4. 研究成果

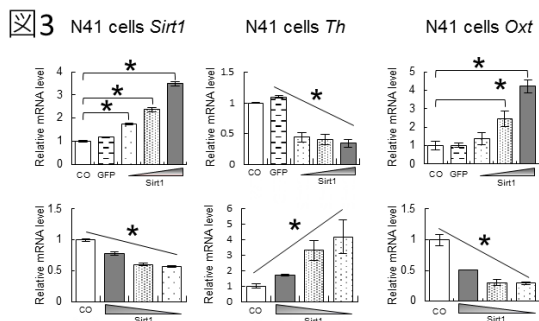
高脂肪食嗜好性は、NS-OE マウスで増加し、NS-KO マウスで抑制された (図 1)。他方、高シヨ糖食嗜好性は、NS-OE マウスで抑制され、NS-KO マウスで増加した (図 1)。



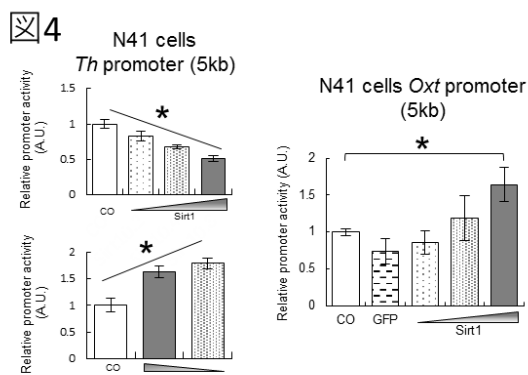
また、食餌嗜好性関連因子の脳内遺伝子発現解析では、NS-OE マウスの視床下部で、高脂肪食を制御するドパミンの律速酵素である *Th* の遺伝子発現が減少し、高シヨ糖食嗜好性を制御する *Oxt* の遺伝子発現は増加していた (図 2)。他方、NS-KO マウスでは、その逆の効果が得られた (図 2)。



視床下部細胞株 N41 では、SIRT1 過剰発現により *Th* の遺伝子発現が減少を、ノックダウンではその逆の効果が得られた (図 3)。また、*Oxt* の遺伝子発現は、SIRT1 の過剰発現で増加を示し、ノックダウンではその逆の結果が得られた (図 3)。



Th のプロモーター活性は、SIRT1 過剰発現で活性が減少を示し、ノックダウンで増加を示した (図 4)。Oxt のプロモーター活性は、SIRT1 の過剰発現で活性が増加を示した (図 4)。



これまでに、ドパミンシグナルは脂質嗜好性を促進させ (Johnson PM and Kenny PJ. Nat Neurosci. 2010)、オキシトシンシグナルはシヨ糖嗜好性を抑制することが知られている (Ott V et al. Diabetes. 2013 ; Amico J et al. Am J Physiol. 2005 ; Olszewski PK et al. Endocrinology. 2010 ; Mullis K et al. Brain Res. 2013)。すなわち、中枢性の SIRT1 は、ドパミンとオキシトシンシグナルを介して食餌嗜好性を調節している可能性が示唆された。

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 3 件)

(全て査読有)

1. Yamane T, Muramatsu A, Yoshino S, Matsui S, Shimura M, Tsujii Y, Iwatsuki K, Kobayashi Hattori K, Oishi Y. mTOR inhibition by rapamycin increases ceramide synthesis by promoting transforming growth factor 1/Smad signaling in the skin. FEBS Open Bio. 6(4):317-25 (2016).
2. Sasaki T, Kinoshita Y, Matsui S, Kakuta S, Yokota-Hashimoto H, Kinoshita K,

Iwasaki Y, Kinoshita T, Yada T, Amano N, Kitamura T. N-methyl-d-aspartate receptor coagonist d-serine suppresses intake of high-preference food. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 309(5):R561-75 (2015).

3. Sasaki T, Kuroko M, Sekine S, Matsui S, Kikuchi O, Susanti VY, Kobayashi M, Tanaka Y, Yuasa T, Kitamura T. Overexpression of insulin receptor partially improves obese and diabetic phenotypes in db/db mice. Endocr J. 62(9):787-96 (2015).

[学会発表](計 13 件)

1. 松居 翔、佐々木 努、橋本 博美、河野 大輔、小林 雅樹、北村 忠弘、「Sirt1 によるシヨ糖嗜好性制御機構の解明」、第 37 回日本肥満学会 (東京)、2016 年 10 月 7 日
2. 松居 翔、佐々木 努、橋本 博美、小林 雅樹、北村 忠弘、「Sirt1 はオキシトシンを介してシヨ糖嗜好性を抑制する」、第 89 回日本内分泌学会学術総会 (京都)、2016 年 4 月 21 日
3. 松居 翔、佐々木 努、橋本 博美、小林 雅樹、北村 忠弘、「Sirt1 はオキシトシンを介してシヨ糖嗜好性を抑制する」、2016 年度日本農芸化学大会 (札幌)、2016 年 3 月 29 日
4. 松居 翔、佐々木 努、橋本 博美、小林 雅樹、北村 忠弘、「中枢神経系の SIRT1 による食事嗜好性制御機構の解析」第 38 回日本分子生物学会年会 (神戸)、2015 年 12 月 1 日
5. 佐々木 努、松居 翔、橋本 博美、北村 忠弘、「NMDA 受容体コアゴニスト D-セリンは食事嗜好性を制御する」第 38 回日本分子生物学会年会 (神戸)、2015 年 12 月 3 日
6. 松居 翔、佐々木 努、橋本 博美、小林 雅樹、北村 忠弘、「中枢神経系の SIRT1 による食事嗜好性制御機構の解析」第 36 回日本肥満学会 (名古屋)、2015 年 10 月 2 日
7. 佐々木 努、松居 翔、橋本 博美、北村 忠弘、「NMDA 受容体コアゴニストによる食事嗜好性調節機構」第 36 回日本肥満学会 (名古屋)、2015 年 10 月 2 日
8. 松居 翔、佐々木 努、橋本 博美、小林 雅樹、北村 忠弘、「中枢神経系の SIRT1 は脂質とシヨ糖への嗜好性を制御する」第 20 回アディポサイエンス・シンポジウム (大阪)、2015 年 8 月 22 日
9. Matsui S, Sasaki T, Yokota-Hashimoto H, Kobayashi M, Kitamura T, SIRT1 in the central nervous system regulates food preference. 38th Annual meeting of the Japan Neuroscience Society (神戸)、2015 年 7 月 28 日
10. Sasaki T, Matsui S, Yokota-Hashimoto H, Kitamura T, N-methyl D-aspartate receptor co-agonist D-serine suppresses intake of high-preference food. 38th Annual meeting of the Japan Neuroscience

Society (神戸)、2015年7月30日

11. 松居 翔、佐々木 努、橋本 博美、小林 雅樹、北村 忠弘、「中枢性 Sirt1 による食餌嗜好性制御機構の解析」第 88 回日本内分泌学会学術総会 (東京)、2015年4月23日

12. 松居 翔、佐々木 努、橋本 博美、小林 雅樹、北村 忠弘、「中枢性 Sirt1 による食餌嗜好性制御機構の解析」2015年度日本農芸化学会 (岡山)、2015年3月27日

13. Matsui S, Sasaki T, Yokota-Hashimoto H, Kobayashi M, Kitamura T. SIRT1 in the central nervous system regulates food preference. The 92th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan (神戸)、2015年3月22日

〔その他〕

<http://taisha.imcr.gunma-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松居 翔 (Matsui Sho)

群馬大学・生体調節研究所・研究員

研究者番号：80739673