

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

科学研究費助成事業

研究成果報告書



平成 30 年 6 月 2 日現在

機関番号：32665

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K20611

研究課題名(和文) 摂食行動調節中枢におけるエピジェネティクス調節の解明

研究課題名(英文) Investigating the influence of epigenetic regulation on feeding behavior

研究代表者

滝口 旗一 (TAKIGUCHI, Hatakazu)

日本大学・歯学部・非常勤医員

研究者番号：00633439

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)：Methyl-CpG binding protein 2 (MeCP2) 遺伝子ヘテロ欠損雌マウスではコレシストキニン投与による摂食行動抑制の効果が低下していることが示唆された。この結果から、MeCP2の減少によって末梢からのシグナル伝達機能が低下している可能性が考えられた。また本研究によって、摂食行動がエピジェネティック制御によって変化する可能性が示された。末梢からのシグナル伝達機能の低下がRett症候群において様々な症状を引き起こしている可能性が考えられる。この研究は、Rett症候群の病態やエピジェネティック制御異常の理解を促す上で意義があったと思われる。

研究成果の概要(英文)：It was suggested that the effect of suppressing feeding behavior by cholecystokinin administration was decreased in female heterozygous MeCP2-deficient mice. From this result, it is considered that neurotransmission from the periphery may be decreased due to MeCP2 deficiency. This study suggests that feeding behavior changes with epigenetic regulation. We also believe that diminished capacity for signal transduction from the peripheral nerves may cause various symptoms in Rett syndrome cases. We believe that the results of this study are meaningful in terms of promote understanding of the pathology of Rett syndrome and epigenetic regulation abnormality.

研究分野：小児歯科学

キーワード：摂食行動 代謝 エピジェネティクス MeCP2 Rett 症候群 視床下部 ノルアドレナリン コレシストキニン

## 1. 研究開始当初の背景

平成 17 年に「食育基本法」、平成 18 年には「食育推進計画」が制定され、小児期からの正しい食生活の重要性が国をあげて取り組まれている。小児歯科領域が積極的に食育に携わって行くためにも、摂食や栄養についての深い知識を得ることが求められている。

近年、胎児期～乳児期に経験した栄養環境によって成人期に発症するメタボリックシンドロームなど代謝疾患のなりやすさが後天的に影響する可能性が提唱されている。この仕組みに代謝に関連する遺伝子のエピジェネティック制御が関与することが想定されているが、実態は明らかではない。また、生活習慣病やストレスなどにおいてもエピジェネティック制御によって引き起こされている可能性が示されてきている。エピジェネティック制御とは、遺伝子の塩基配列の変化を伴わずに遺伝子発現を調節する後天的な遺伝子修飾である。エピジェネティック制御には、DNA メチル化が知られている。

エピジェネティック制御の異常によっておこる疾患として、最初に報告されたのが Rett 症候群である。古典的 Rett 症候群は、1966 年にウィーンの小児神経科医 Andreas Rett により初めて報告された疾患である。本症は神経系の異常を主体とした特異な発達障害であり、主に女兒にみられる。女兒の約 1 万人に 1 人の割合で発症するといわれており、女兒ではダウン症に次いで 2 番目に多い先天性の疾患である。古典的 Rett 症候群の歯科的症状としては、歯ぎしり、歯並びや咬合の異常など歯科的問題を抱えることがある。近年、X 染色体上に存在し、Methyl-CpG binding protein 2 (MeCP2) をコードする遺伝子が本症の原因遺伝子であることがわかった (Amir et al., Nat Genet, 1999)。

MeCP2 はエピジェネティック制御の中で主要な役割を担っているタンパクの一つである。Rett 症候群の症状が主に神経症状であるのは、MeCP2 が主に神経系で重要な役割を果たしているためと考えられている。その後、MeCP2 遺伝子上の変異部位の同定ならびにホットスポットの検索が行われ、臨床診断基準によらない非定型 Rett 症候群の存在が知られるようになった (Orrico et al., FEBS Lett, 2000)。臨床診断基準によらない非定型 Rett 症候群の存在が明らかになったことから、潜在的な患者数はさらに多いものと考えられる。現在、MeCP2 遺伝子変異マウスを用いることでエピジェネティック制御および Rett 症候群の病態についての研究が国内外で行われているが、Rett 症候群の病態には不明な点が多く、根本的治療法はなく対症療法のみである。

代表者はこれまでに、MeCP2 遺伝子変異マウスを用いた研究を行ってきた結果、MeCP2 遺伝子ヘテロ欠損雌マウスの多くは

体重および摂食量を著しく増加させること、およびマイクロ X 線 CT 腹部断層撮影によって著明な内臓脂肪蓄積による肥満を呈していることを明らかにした (滝口, 日大歯学, 2012)。MeCP2 遺伝子の変異によって起こる症状には、摂食などの本能行動に関する、視床下部での機能調節の異常に起因すると考えられるものが含まれる (Motil et al., J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr., 1999)。本能行動を調節している神経伝達物質の中で主要な役割を担っているものとしてノルアドレナリンが挙げられる。古典的 Rett 症候群や MeCP2 変異動物については脳のノルアドレナリン神経に異常が起こることが知られている。

これらのことから、代表者は、延髄から視床下部に投射するノルアドレナリン神経に着目し、これまで研究を行ってきた。延髄ノルアドレナリン産生細胞から生じる腹側線維束は、視床下部に入り、代謝調節に関連するホルモンの一つであるメラニン凝集ホルモンを特異的に発現するニューロンを含む領域である視床下部外側野を神経支配していることで知られている。視床下部外側野は、視床下部の広い領域を含み、代謝調節の中心であるとともに、ノルアドレナリン神経活動との関係が示唆されている。

## 2. 研究の目的

代表者は、MeCP2 の減少によって神経系や行動にどのような異常が生じているかを、摂食行動に着目し、調べることを目的とした。MeCP2 は主に神経系で重要な役割を果たしており、MeCP2 の欠損が Rett 症候群の症状に関連している。しかし、この MeCP2 欠損によってどのような症状や行動異常と繋がっているかは定かではない。MeCP2 変異によってノルアドレナリン神経に異常が起こることが知られている。そこで、ノルアドレナリン神経活動や摂食行動と関連性がある摂食行動抑制ホルモンのコレシストキニン受容体拮抗薬として用いた (Rinaman, J Neurosci, 2003)。コレシストキニンは、腸管の迷走神経求心性の受容体に結合し、延髄のノルアドレナリン神経を経由して、視床下部まで腸管での情報を伝達する。

## 3. 研究の方法

(1) MeCP2 遺伝子ヘテロ欠損雌マウスの平常時での摂食行動を分析した。MeCP2 遺伝子ヘテロ欠損雌マウスと野生型雌マウスを個々に収容し、1 日の摂食量を測定した。予め計量された固形飼料を各時点で提供し、秤量した標準飼料と摂食後の飼料の重量との差を測定することにより摂食量を決定した。実験開始 1, 2, 4 および 24 時間後に、飼料の重量を計量した。

(2) MeCP2 遺伝子ヘテロ欠損雌マウスの摂食行動について、行動薬理学的手法等によ

り検討した。予め摂餌制限したマウスに生理食塩水を投与し、投与後の摂餌量を経時的に計測した。同様に、コレシストキニンを投与し、投与後の摂餌量を経時的に計測した。

#### 4. 研究成果

(1) 開始後 4 時間以内の食物摂取量は、MeCP2 遺伝子ヘテロ欠損雌マウスは野生型雌マウスよりも少なかった (図 1, 2)。24 時間での食物摂取量は、MeCP2 遺伝子ヘテロ欠損雌マウスは野生型雌マウスより多かった (図 3, 4)。

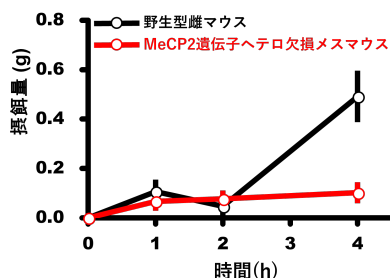


図 1 摂餌量の経時の変化 (4 時間)

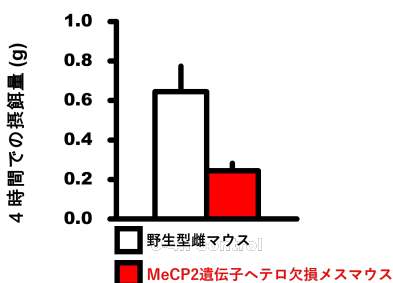


図 2 総摂餌量 (4 時間)

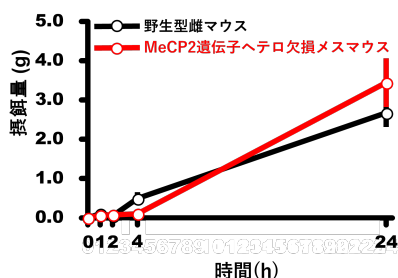


図 3 摂餌量の経時の変化 (24 時間)

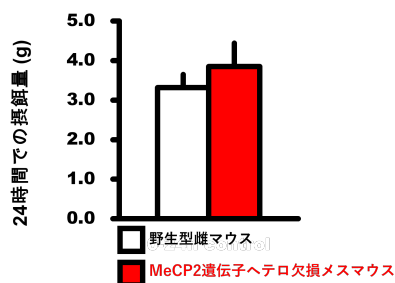


図 4 総摂餌量 (24 時間)

(2) コレシストキニン投与によって、野生型雌マウスは摂食行動の抑制傾向がみられたが (図 5), MeCP2 遺伝子ヘテロ欠損雌マウスでは摂食行動の抑制傾向はみられなかった (図 6)。

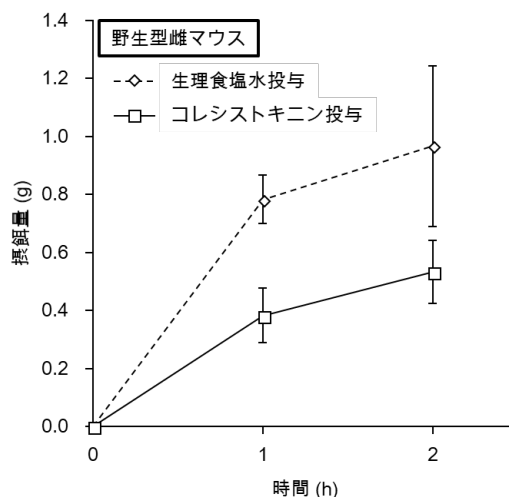


図 5 野生型雌マウスのコレシストキニン投与による摂食行動の変化

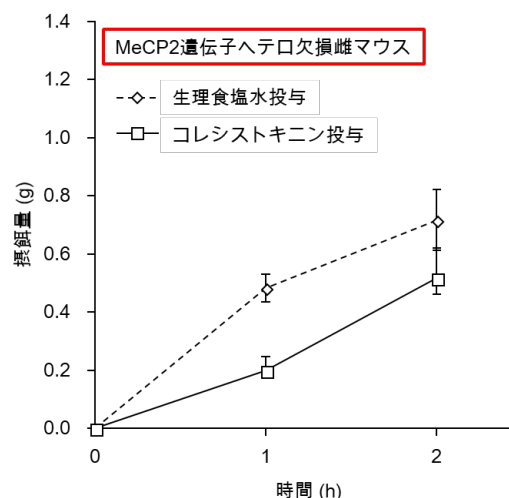


図 6 MeCP2 遺伝子ヘテロ欠損雌マウスのコレシストキニン投与による摂食行動の変化

MeCP2 遺伝子ヘテロ欠損雌マウスではコレシストキニン投与による摂食行動抑制の効果が低下していることが示唆された。この結果から、MeCP2 の減少によって末梢からのシグナル伝達機能が低下している可能性が考えられる。Rett 症候群についても、同様なことが原因で様々な症状を起こしている可能性が考えられる。本研究によって、摂食行動がエピジェネティック制御によって変化する可能性が示されたとともに、Rett 症候群の病態解明にとって意義ある結果が得られたと思われる。

## 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 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

1. Hatakazu Takiguchi, Characteristics of Food Intake Behavior in Female Mice modeling Rett Syndrome, 10th Biennial Conference of the Pediatric Dentistry Association of Asia in conjunction with 54th Annual Conference of the Japanese Society of Pediatric Dentistry, 2016

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

滝口 旗一(TAKIGUCHI, Hatakazu)  
日本大学・歯学部・非常勤医員  
研究者番号：00633439

### (2)研究分担者

( )

研究者番号：

### (3)連携研究者

( )

研究者番号：