

平成 30 年 6 月 1 日現在

機関番号：11301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2016～2017

課題番号：16H06616

研究課題名(和文) 視床下部栄養センシングにおけるオリゴデンドロサイト前駆細胞の機能的役割

研究課題名(英文) Role of glia in hypothalamic nutrient sensing

研究代表者

安本 有希 (Yasumoto, Yuki)

東北大学・医学系研究科・助教

研究者番号：40779352

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではグリアであるオリゴデンドロサイト前駆細胞(OPC)とアストロサイトに焦点を絞って摂食行動への関与を調べることを目的とした。具体的には、(1)視床下部OPCsの除去、活性化モデルを作成し、(2)視床下部OPCsとニューロン、アストロサイトの接触関係を電子顕微鏡(SBF-SEMと3次元画像構築)を用いて明らかにした。また(3)視床下部栄養センシングにおけるFABP7の機能を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In this study, we established OPC specific dysfunction mouse, performed morphological analysis by 3D electron microscopy and examined the role of fatty acid-binding protein 7 (FABP7) in the hypothalamic ARC. We performed a phenotypic analysis of diet-induced FABP7 knockout (KO) obese mice and of FABP7 KO mice treated with a single leptin injection. In mice fed a high-fat diet, weight gain and food intake were lower in FABP7 KO mice than in wild type (WT) mice. FABP7 KO mice also had lower food intake and weight gain after a single injection of leptin, and we consistently confirmed that the number of pSTAT3+ cells in the ARC indicated that the leptin-induced activation of neurons was significantly more frequent in FABP7 KO mice than in WT mice. These results indicate that in hypothalamic astrocytes, FABP7 might be involved in sensing neuronal leptin via glia-mediated mechanisms and plays a pivotal role in controlling systemic energy homeostasis.

研究分野：神経科学

キーワード：視床下部 グリア オリゴデンドロサイト前駆細胞 レプチン

1. 研究開始当初の背景

(1) 代謝におけるグリアの機能

肥満は糖尿病、高脂血症、高血圧などの生活習慣病の共通要因であり、今日、肥満が世界的な問題となっている。摂食行動は神経系により高度に制御されており、脳、特に視床下部や脳幹が個体全体のエネルギー状態、個々の組織の代謝状態を感知し、それらの情報を統合することが知られる。視床下部の中でも特に弓状核や正中隆起は、脳脊髄液関門の物質選択性が厳密でないため、循環血液中のグルコース、脂肪酸、レプチンなどホルモンが最初にアクセスする脳の部位として非常に重要である (図1, 3参照)。最近、肥満は視床下部において、炎症によるグリア細胞の活性化 (グリオシス) を引き起こし、視床下部の様々な調節機構に異常をきたすことによって恒常性調節機構を破綻させることが明らかとなった (Thaler et al., 2012)。またレプチン受容体がアストロサイトにも発現していること (Hsueh et al., 2009)、アストロサイトのレプチン受容体を特異的に欠損させると、摂食調節に関わる視床下部ニューロンへのシナプス入力に変化し、レプチンの摂食抑制作用が弱まること (Kim et al., 2014)、オリゴデンドロサイト前駆細胞 (OPC) が視床下部でニューロンのレプチン感受性に関与していること (Djogo et al., 2016) が報告された。オプトジェネティクスなどの新しい神経科学的手法を用いた研究によって、摂食や代謝調節に関わる神経回路がニューロンレベルで解明されてきたが、そこにグリア細胞がどのように関与しているかについては未だ不明な点が多いため、ニューロンだけでなくグリア細胞も肥満研究の関心の中心になりつつある。

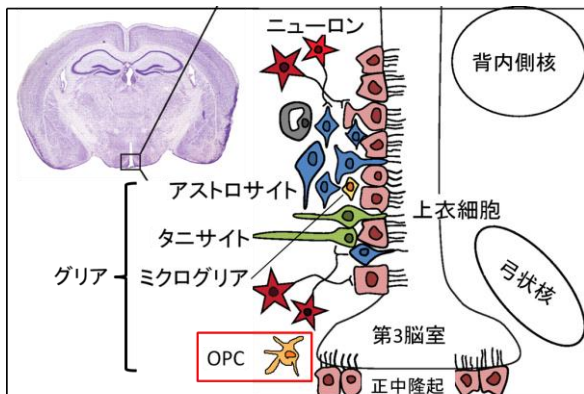


図1 視床下部第三脳室周囲に存在する細胞

(2) 脂肪酸結合タンパク質 (FABP) 7 の視床下部における発現

申請者は細胞内脂肪酸代謝に関わる分子である脂肪酸結合タンパク質 (FABP7) が視床下部に強く発現し、アストロサイトと OPC に局在することを発見した (図2参照)。この結果からグリアが血中脂質濃度などをセンシングし、二次的にニューロンに伝え

ることにより、摂食行動を制御している可能性が高いと考えた。

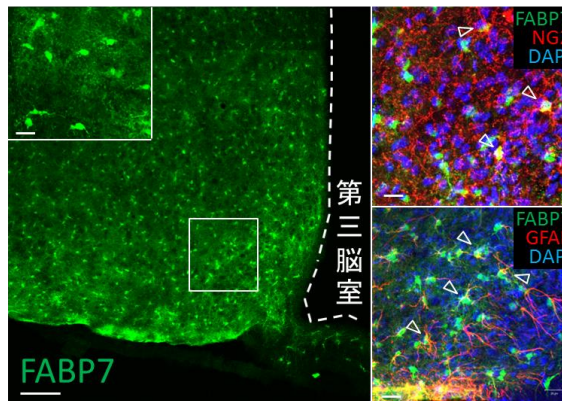


図2 視床下部においてFABP7は強く発現し(左)、OPC(右上)、アストロサイトに局在する(右下)。

2. 研究の目的

本研究ではグリアであるオリゴデンドロサイト前駆細胞 (OPC) とアストロサイトに焦点を絞って摂食行動への関与を調べることを目的とした。

- (1) 視床下部 OPCs の除去、活性化/抑制化した際の変化を、摂食量の測定により摂食行動学的に明らかにすること。
- (2) 視床下部 OPCs とニューロン、アストロサイト、タニサイトの接触関係を明らかにし、OPCs から分泌される液性因子を網羅的に解析すること。
- (3) 視床下部栄養センシングにおける FABP7 の機能を明らかにすること。

3. 研究の方法

(1) 視床下部 OPCs の除去、活性化/抑制状態と摂食行動への影響

OPCs 特異的除去マウスの作製
 PDGFR α -Cre マウスに flox-ジフテリア毒素を載せたアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを注入することで、OPCs を特異的に除去する。また PDGFR α -Cre マウス (The Jackson Laboratory) と floxed-ジフテリア毒素マウス (RIKEN BRC) の交配のみにより OPCs を除去するモデルも同時に作成した。

(2) 視床下部栄養センシングにおける OPCs-ニューロン関連、OPCs-グリア関連の機能的意義

これまで共焦点レーザー顕微鏡や STED (Stimulated Emission Depletion) 顕微鏡を用いて OPCs-ニューロン、OPC-アストロサイト、OPC-タニサイトが解剖学的にどのように接触して存在しているのか観察を試みてきたが、技術的な (解像度の) 限界から詳細な接触の形態を明らかにすることができなかった。そこで SBF-SEM とその 3次元構築像から、突起同士の接触を含めた詳細な細胞間コミュニケーションの観察を試みた。取得した連続 SEM 画像の3次元構築にはシステムインフロンティア社のソフト

ウェア (Colorist, Visualizer-kai) を用いた。

(3) 視床下部栄養センシングにおける FABP7 の機能

FABP7 ノックアウトマウスを用いて、高脂肪食摂取モデルマウスを作製し、体重増加などの全身代謝。また、レプチン投与実験による (ニューロンにおける) レプチン感受性の測定を行い、WT と比較した。

4. 研究成果

(1) 視床下部 OPCs の除去、活性化/抑制状態と摂食行動への影響

視床下部 OPCs の活性変化が、神経可塑性や摂食行動に変化をもたらすかどうかについて、ジフテリア毒素による OPCs 特異的除去マウスにより、OPCs の活性状態を変化させるモデルを作製した。30-40% の OPC 除去率が見込めたが、期待していた減少率は得られなかった。

(2) 視床下部栄養センシングにおける OPCs-ニューロン連関、OPCs-グリア連関の機能的意義

OPCs と血管内皮細胞、OPCs と他のグリア細胞 (アストロサイト、タニサイト) がどのような機構で連携しているのかを組織学的に明らかにするために、免疫組織学染色、SBF-SEM (Serial Block Face-Scanning Electron Microscopy) などによる形態学的手法による観察を行った。さらにマウス初代培養 OPC を樹立し、走査型電子顕微鏡 (SEM) や、ライブセルイメージングを行える技術を確認した。PDGFR α 蛍光標識マウス (PDGFR α -EYFP マウス) を用意し、PDGFR α 陽性細胞をセルソーターで分離した。発現する代謝関連受容体、ホルモン受容体などの違いを DNA マイクロアレイ、q-PCR などの解析によって同定することにより、肥満病態への OPC の関与を明らかにする予定である。

(3) 視床下部栄養センシングにおける FABP7 の機能

WT、FABP7KO マウスに高脂肪食 (HFD) を 6 週間摂取させたところ、WT マウスと比較して FABP7KO マウスにおいて HFD の摂取量と体重増加量が有意に低下していた (図 3A)。8 週齢の雄マウスにレプチンを投与し、投与後の摂食量と体重を測定したところ、WT マウスに比べて FABP7KO マウスにおいて有意に低下していた (図 3B)。レプチン投与 30、60 分後の弓状核の pSTAT3 陽性細胞数は、FABP7KO マウスで特に POMC ニューロンにおいて有意に増加していた (図 3C)。一方、両者間で POMC 陽性および AgRP 陽性神経細胞数自体に変化は認められなかった。FABP7 は OPC、アストロサイトに発現していること (図 2) から、FABP7KO マウスにおけるレプチン

感受性の亢進は、OPC、アストロサイトにおけるレプチンシグナルの変化がニューロンに与えた結果であると考えられた。視床下部グリアの FABP7 は、グリア・ニューロン連関を介して視床下部弓状核ニューロンのレプチン感受性を制御している可能性が示唆された。

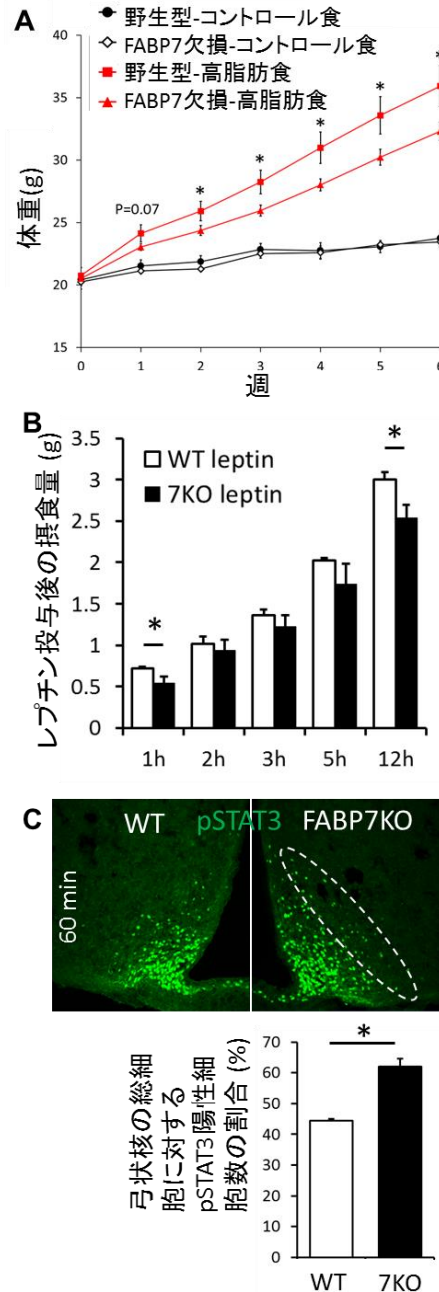


図3 A: FABP7欠損マウスでは野生型と比較して、高脂肪食摂取時の体重増加量に有意な低下が認められた。レプチン投与後、FABP7KOマウスではB: 摂食抑制が亢進、C: pSTAT3陽性細胞数が増加していることから、FABP7KOマウスのレプチン感受性は亢進していることが示唆された。

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 1 件) 査読あり

① Yasumoto Yuki、Miyazaki Hirofumi、
Ogata Masaki、Kagawa Yoshiteru、Yamamoto
Yui、Islam Ariful、Yamada Tetsuya、Katagiri
Hideki、Owada Yuji

Glial Fatty Acid-Binding Protein 7 (FABP7)
Regulates Neuronal Leptin Sensitivity in the
Hypothalamic Arcuate Nucleus

Molecular Neurobiology 2018 DOI:10.1007/s
12035-018-1033-9

[学会発表] (計 2 件)

① 安本有希、大和田祐二

FABP7 は視床下部アストロサイトにおけ
るレプチン感受性を調節し、高脂肪食摂取
量を抑制する。2017 年 第 122 回日本解剖
学会総会・全国学術集会

② 安本有希

視床下部グリアに発現する FABP7 のレプ
チン感受性と摂食行動における機能 2017
年 第 6 回東北脳科学ウィンタースクール

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安本 有希 (YASUMOTO YUKI)

東北大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：40779352

(2) 連携研究者

大和田 祐二 (OWADA YUJI)

東北大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：20292211