

令和元年6月4日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09788

研究課題名(和文) 脳内fractalkine-CX3CR1シグナルの肥満病態における機能解析

研究課題名(英文) Pathophysiological involvement of brain fractalkine-CX3CR1 signal in obesity

研究代表者

勝浦 五郎 (Katsuura, Goro)

鹿児島大学・医歯学総合研究科・特任研究員

研究者番号：20401226

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：マウスを用いて、神経細胞から分泌されるfractalkine(fractalkine (FRK) の摂食に及ぼす作用を検討した。その結果、(1)48時間絶食により視床下部のFRKおよびFRKの受容体であるCX3CR1 mRNA発現の有意な減少が認められた。fractalkineによって再摂食量は有意に抑制された。(2)FRKによって夜間の摂食量の有意な減少が認められた。(3)ghrelinおよびneuropeptide Yによる摂食亢進作用が、FRKによって有意に抑制された。これらの結果から、fractalkine-CX3CR1 signalは摂食を抑制する作用のあることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肥満病態での中枢神経系のエネルギー調節機能について、神経細胞とマイクログリアの相互作用を明らかにすることによって、肥満に関連する機能異常のメカニズムを明らかにし、さらに、新規治療薬の開発にとっての基盤的情報を得ることができた。

研究成果の概要(英文)：Fractalkine-CX3CR1 signal plays an important role in regulation of activities of the central nervous system. In the present study, the effects of fractalkine on food intake in mice were observed. The following results were obtained; (1) The mRNA expressions of fractalkine, microglia fractalkine and CX3CR1 in the hypothalamus were significantly decreased after 48-hr fasting, and then returned to normal levels. The intracerebroventricular (icv) administration of fractalkine significantly decreased food intake of refeeding. (2) The icv administration of fractalkine significantly decreased food intake of nocturnal phase. (3) The icv administration of fractalkine significantly decreased food intake induced by ghrelin and neuropeptide Y. These findings suggest that fractalkine-CX3CR1 signal has anorexigenic actions in mice.

研究分野：神経薬理

キーワード：肥満 マイクログリア fractalkine CX3CR1 摂食調節 学習記憶

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、過剰に摂取されたエネルギーが脂肪組織に蓄積されることによって形成され、糖尿病、高血圧および高脂血症などの危険因子であり、その人口は世界的に急増している。近年、肥満および糖尿病において、エネルギー調節系の異常に加えて、中枢神経系の機能異常(うつ、学習障害など)が報告されており(Roberts, *Int J Obes*, 2003; Simon, *Arch Gen Psychiatry*, 2006; Zhao, *Int J Obes*, 2009)、申請者は、これまで、高脂肪食摂取肥満モデル動物を用いて、肥満とうつならびに肥満と学習障害について、そのメカニズムについて報告してきた(*Endocrinology*, 2011; *J. Neuroendocrinol*, 2012)(図 1、2)。エネルギー摂取は、中枢神経系、特に視床下部(metabolic hunger)と中脳辺縁系ドーパミン神経系を中心とした報酬系(hedonic hunger)も食物嗜好性の観点から摂食調節に関わっていることが明らかになりつつある(Schwartz, *Nature*, 2000; Kenny, *Nat Rev Neurosci*, 2011)。

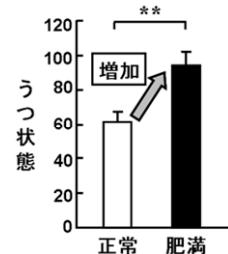


図1. うつ状態

中枢神経系の機能は、神経細胞とグリア細胞の相互作用によって調節されており、特に、グリア細胞の中でもマイクログリアが種々の中枢神経系機能障害(うつ病、統合失調症、神経変性疾患、学習記憶障害など)に深く関わっていることが明らかになりつつある(Béche, *Front Cell Neurosci*, 2013)。最近、神経細胞とマクログリアの相互作用の調節因子として神経細胞から放出されるケモカインの1種である fractalkine(ニューロケモカイン)はマイクログリアに存在する CX3CR1 に作用し、最近、主要な中枢神経系機能(学習記憶、神経可塑性、神経変性、脳内炎症)に関わっていることが報告されている(図 3)(Paolicelli, *Front Cell Neurosci*, 2014)。さらに、最近の報告で、脂肪組織にも fractalkine(アディポケモカイン)が存在し、炎症反応やインスリン分泌調節に関与していることが明らかになりつつあり(Shah, *Plos One*, 2015; Gregg, *Islets*, 2014; Polyak, *Brain Behav Immun*, 2014)、また、糖尿病および代謝性疾患の血中 fractalkine 濃度が高値であることが報告され(Shah, *Diabetes*, 2011; Xueyao, *Int J Endocrinol*, 2014)、肥満や糖尿病の病態との関連性が注目されている(図 3)。肥満モデル動物では、中枢神経系でも炎症反応の亢進が認められ (Cazettes, *Brain Res*, 2011; Singhal, *Front Neurosci*, 2014)、さらに、絶食およびストレスも脳内炎症に影響することが報告されている(Lavin, *Obesity*, 2011; Vasconcelos, *J Neuroinflamm*, 2014; Jurgens, *Exp Neurol*, 2012)。マイクログリアの肥満病態への関与を示唆する情報として、ごく最近、高脂肪食摂取肥満モデルマウスで肥満の程度と脳内 fractalkine の発現に関連性があることが報告されている(Morari, *Diabetes*, 2014)。さらに、正常重者と比較して、ヒトの肥満者の fractalkine の脳脊髄液濃度が、有意に減少していることが報告されている(Larsson, *Cytokine*, 2015)。これらのことから、神経細胞とマイクログリアの相互作用の変容が肥満病態に関わっていると想像され、そのキー因子である fractalkine-CX3CR1 シグナルの肥満病態での重要性が予測される。これらの報告と関連して、申請者は、マウスを用いて、高脂肪食摂取(4週間)および絶食(48時間)・再摂食(4時間)による視床下部での fractalkine および CX3CR1 mRNA 発現の有意な減少を見出している(図 4、5)。最近、肥満研究において、よりヒトに近い情報を得るために、non-human primate であるマーモセットを用いた研究結果が複数報告されつつある(Power, *Am J Primatol*, 2012; Ziegler, *Am J Primatol*, 2013; Ross, *Obesity*, 2013)。また、マーモセットのゲノム解析も報告された(*Nat Genet*, 2014)。申請者の所属する鹿児島大学医学部には約 60 頭のマーモセットを保有しており、すでに、申請者は、NPY ファミリー摂食調節ペプチドの摂食調節作用(図 7)および学習記憶(Gordon, *Behav Brain Res*, 2015)を検討している。そこで、本研究でも、マーモセットを用いることにより、よりヒトに近い情報を得ることができると考えられる(図 6)。総合的に、本申請で、神経細胞とマイクログリアの相互作用の調節因子である fractalkine-CX3CR1 シグナルの摂食調節、食物嗜好性、脳内炎症、情動および学習記憶における作用を明らかにすることによって、肥満の新しい病態解明にアプローチすることができると考えている。

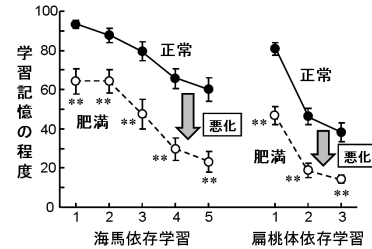


図2. 学習障害

図 3. Fractalkine の作用

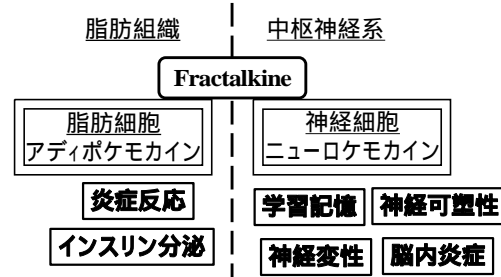


図3. Fractalkineの作用

図 3. Fractalkine の作用

2. 研究の目的

ケモカインの一種である fractalkine は脂肪組織(アディポケモカイン)と神経細胞(ニューロケモカイン)に存在する。神経細胞から放出される fractalkine(ニューロケモカイン)はマイクログリアに存在する CX3CR1 受容体に作用し、神経細胞とマイクログリアのクロストークの重要な因子であると考えられている。そこで、本研究では、マウスと non-human primate であるマーモセットを用いて、fractalkine-CX3CR1 シグナルの肥満病態、特に、摂食調節、食物嗜好性および脳内炎症に及ぼす作用について解析を行う。さらに、肥満に伴う中枢神経系の機能異

常である情動異常および学習障害についての解析も行う。これらのアプローチによって摂食調節および肥満病態についての新しい知見を得ることができ、創薬研究に繋がる基盤的情報を見出すことができる。

3. 研究の方法

実験動物はオス C57BL/6J(8-10 週齢)を用いた。

(1) 絶食-再摂食による遺伝子変化と fractalkine の作用：48 時間絶食後、4 時間再摂食を行った。遺伝子発現解析は、絶食前、48 時間後および 4 時間再摂食後のマウスの脳から視床下部を採取し、リアルタイム RT-PCR 法を用いて行った。Fractalkine は再摂食直前に側脳室内投与し、4 時間の再摂食量を測定した。

(2) 夜間摂食量におよぼす fractalkine の作用：暗期(午後 7 時消灯)直前に fractalkine を側脳室内(icv)投与し、15 時間後までの摂食量を測定した。

(3) ghrelin および neuropeptide Y (NPY)の摂食亢進作用に対する fractalkine の作用：ghrelin (360 μg/kg、ip)と同時に fractalkine を icv 投与し、4 時間の摂食量を測定した。NPY (5 nmol、icv) と fractalkine を同時に icv 投与し、4 時間の摂食量を測定した。

4. 研究成果

(1) 絶食-再摂食による遺伝子変化と fractalkine の作用：

48 時間絶食によって視床下部の fractalkine および CX3CR1 mRNA 発現が有意に減少し、再摂食後に正常レベルに回復した(図 4)。また、fractalkine、3 μg 以上の icv 投与によって、再摂食量の有意な減少が認められた(図 5)。

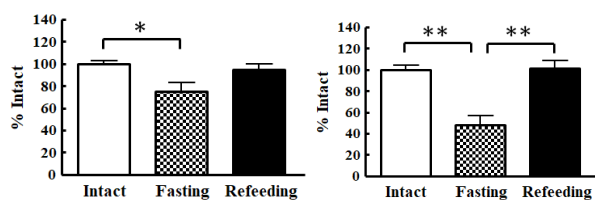


図 4. 絶食-再摂食による視床下部 fractalkine および CX3CR1 mRNA の変化

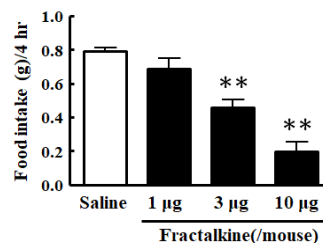


図 5. 再摂食量に及ぼす fractalkine の作用

(2) 夜間摂食量におよぼす fractalkine の作用：

Fractalkine、3 μg の icv 投与によって、夜間摂食量の有意な減少が認められた(図 6)。

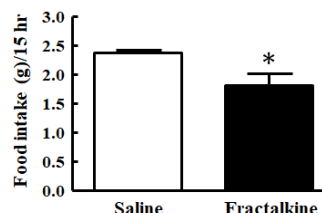


図 6. 夜間摂食量におよぼす fractalkine の作用

(3) ghrelin および neuropeptide Y (NPY)の摂食亢進作用に対する fractalkine の作用：

Fractalkine、3 μg の icv 投与によって、ghrelin および NPY の摂食亢進作用が生食投与群のレベルにまで有意に抑制された(図 7)。

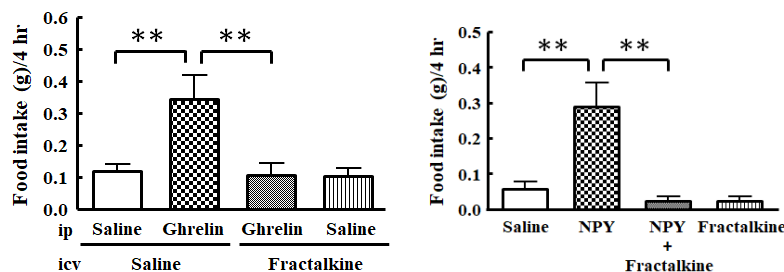


図 7. ghrelin および neuropeptide Y (NPY)の摂食亢進作用に対する fractalkine の作用

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0件)

〔学会発表〕(計 0件)

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1)研究分担者
研究分担者なし

(2)研究協力者
研究協力者なし

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。