

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：33916

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16172

研究課題名(和文) 摂食行動に対するニューロエストロゲンの機能解明

研究課題名(英文) Elucidation of the function of neuroestrogen on feeding behavior.

研究代表者

林 孝典 (Hayashi, Takanori)

藤田医科大学・医学部・講師

研究者番号：40724315

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)： 脳の神経細胞では、局所的かつ独自にエストロゲンが作られており、様々な生理機能に関係している。この神経細胞で合成されるエストロゲンは、ニューロエストロゲンと呼ばれて卵巣や他の組織から供給されるエストロゲンとは区別され、独自に研究されている。  
エストロゲンの食欲抑制作用は明らかだが、ニューロエストロゲンと食欲の関係は不明であるため、マウス視床下部神経細胞株N38を用いて詳細な解析を行った。その結果、視床下部ではニューロエストロゲンが独自に食欲調節神経に働きかけて食欲を抑制してい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

本研究により、独自に調節されているニューロエストロゲンが直接視床下部神経で作用していることが明らかになった。今回のようにエストロゲンとニューロエストロゲンを区別して研究して解析することで、ニューロエストロゲンの神経伝達物質様作用を明らかにすることで、これまで治療困難であった過食、拒食、イライラ食いなどの予防・治療開発につなげたいと考えている。

研究成果の概要(英文)： In the nerve cells of the brain, estrogen is locally and independently produced, and is involved in various physiological functions. The estrogen synthesized in nerve cells is called neuroestrogen. It is distinguished from estrogen supplied from the ovary and other tissues, and is studied independently.

Although the appetite-suppressing effect of estrogen is clear, the relationship between neuroestrogen and appetite is unknown. So, a detailed analysis was performed using the mouse hypothalamic nerve cell line N38. As a result, it was revealed that in the hypothalamus, neuroestrogens independently act on the appetite regulating nerves to suppress appetite.

研究分野：生化学

キーワード：エストロゲン 食欲 ニューロエストロゲン アロマターゼ

## 1. 研究開始当初の背景

### ・短期的な生理応答に重要なニューロエストロゲン について

脳神経細胞内には、ステロイド代謝に関係する一連の酵素群が含まれており、エストロゲンも神経内で de novo 合成されている。神経内のエストロゲンは摂食行動や抗うつ症状といった神経作用に関与しているため、特に「ニューロエストロゲン」と呼ばれ、全身性のエストロゲンとは区別されている。このニューロエストロゲンは自己分泌・傍分泌を通じて

遺伝的作用：核内受容体であるエストロゲン受容体(ER)との結合を介して遺伝子が転写誘導される作用。

非遺伝的作用：細胞膜結合型 ER や小胞体膜結合の GPR30 を介して細胞内シグナル伝達経路を刺激する作用。摂食活動や生殖行動、短期記憶といった短時間量的変化に深く関与している。

の生理作用を示すことが明らかになっている。

### ・摂食中枢の各種ペプチドとニューロエストロゲンは互いに影響している可能性。

閉経後女性の肥満傾向や月経前の食欲増加がよく知られているように、エストロゲンと食欲は密接に関係している。卵胞からの全身性エストロゲンが抑制的に作用するのは明らかだが、近年の報告から脳神経内で摂食ペプチドに直接影響を及ぼすのはニューロエストロゲンと推察される。つまり摂食行動には全身的なエストロゲンとニューロエストロゲンの両方が密接に関係していると考えられる。実際に申請者は、神経細胞を用いた研究で摂食行動に関係が深い GABA や Kisspeptin がニューロエストロゲン合成を調節する事を見出していた。

## 2. 研究の目的

エストロゲンが摂食行動や摂食障害と関係が深い事は明らかになっているが、エストロゲンが関与する詳細な分子機構について不明な点が多い。これは、卵胞から供給される全身性のエストロゲン作用に加えて、脳神経内で de novo 合成されるニューロエストロゲンが自己分泌・傍分泌を通して、細胞内シグナル伝達経路を介した生理応答を示すためである。本応募の研究ではアロマターゼノックアウト(エストロゲン欠如)と脳特異的アロマターゼ発現マウス、神経細胞株を用いてエストロゲンと摂食行動、摂

食関連ペプチドの関係を詳細に明らかにする。

### 3 . 研究の方法

「ニューロエストロゲン合成に対する摂食関連ペプチドの影響」と「摂食関連ペプチド合成に対するニューロエストロゲンの影響」の双方向な解析をマウスと細胞株を使って明らかにする。

1. ニューロエストロゲンが摂食関連ペプチドに与える影響を明らかにする。本研究室で既に確立されている ArKO と BrTG を用いて、全身性エストロゲンとニューロエストロゲンの作用を *in vivo* の表現型レベル(マクロな視点)で明確にする。また、プロオピオメラノコルチン (POMC) や Neuropeptide Y (NPY)、Agouti-related Peptide (AgRP)、Leptin といった摂食関連ペプチドと、それらの受容体発現様式を野生型と比較しながら組織学的・内分泌学的変化を明らかにする。

2. 摂食関連ペプチドがニューロエストロゲン合成に与える影響を明らかにする。ニューロエストロゲン合成の *in vitro* 研究を POMC/AgRP/NPY 受容体陽性であるマウス神経細胞株 N38 を用いて行う。培養時にリガンドとなる摂食ペプチドを添加してニューロエストロゲンの経時的、濃度依存的合成を観察する。ニューロエストロゲン合成能はアロマターゼの発現量・触媒活性や翻訳後修飾から評価、マウスの *in vivo* 実験と合わせて摂食関連ペプチドの神経支配系を明らかにする。

### 4 . 研究成果

野生型の OVX 群は偽手術 (SHAM) 群に比べて体重増加 (SHAM/OVX,  $25.3 \pm 1.2$  g /  $32.4 \pm 2.8$  g  $p < 0.001$ ) したが食餌量は変化がなかった (SHAM/OVX,  $4.0 \pm 0.17$  g /  $4.2 \pm 0.14$  g  $p = 0.202$ )。一方、野生型に対して ArKO の食餌量は増加 (野生型/ArKO,  $3.5 \pm 0.57$  g /  $4.7 \pm 0.55$  g  $p < 0.05$ ) したが、BrTG-ArKO との間に有意差はなかった。今回の発表では、以上の結果の他に OVX や BrTG-ArKO に対してレトロゾールを投与すると一過性に ArKO と同程度の食餌量になることや神経細胞内でのシグナル伝達経路に影響があることが分かった。また、食欲調節を担っている分子の内、MC4R やニューロペプチド Y がニューロエストロゲンに強く影響されることが明らかになった。これらの結果から、内分泌物質として作用するエストロゲンとニューロエストロゲンは、ともに食欲抑制効果を示し、これらは協調して作用してながらも作用機序は独立していると示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

|  |                           |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名<br>Hayashi Takanori, Hikichi Masahiro, Yukitake Jun, Harada Nobuhiro, Utsumi Toshiaki   | 4. 巻<br>14                |
| 2. 論文標題<br>Estradiol suppresses phosphorylation of ER serine 167 through upregulation of PP2A in breast cancer cells   | 5. 発行年<br>2017年           |
| 3. 雑誌名<br>Oncology Letters   | 6. 最初と最後の頁<br>8060-8065   |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.3892/ol.2017.7216  | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-                 |
| 1. 著者名<br>Masahiro Hikichi, Yuka Kiriyama, Takanori Hayashi, Kaori Ushimado, Naomi Kobayashi, Makoto Urano, Makoto Kuroda, Toshiaki Utsumi   | 4. 巻<br>57                |
| 2. 論文標題<br>A Hypoglycemia-inducing Giant Borderline Phyllodes Tumor Secreting High-molecular-weight Insulin-Like Growth Factor II: Immunohistochemistry and a Western Blot Analysis                    | 5. 発行年<br>2018年           |
| 3. 雑誌名<br>Internal Medicine  | 6. 最初と最後の頁<br>237-241     |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.2169/internalmedicine.9287-17  | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-                 |
| 1. 著者名<br>Hayashi Takanori, Hikichi Masahiro, Yukitake Jun, Wakatsuki Toru, Nishio Eiji, Utsumi Toshiaki, Harada Nobuhiro  | 4. 巻<br>9                 |
| 2. 論文標題<br>Forskolin increases the effect of everolimus on aromatase inhibitor-resistant breast cancer cells   | 5. 発行年<br>2018年           |
| 3. 雑誌名<br>Oncotarget   | 6. 最初と最後の頁<br>23451-23461 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br><a href="https://doi.org/10.18632/oncotarget.25217">https://doi.org/10.18632/oncotarget.25217</a>   | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている（また、その予定である）  | 国際共著<br>-                 |
| 1. 著者名<br>Eiji Nishio, Takanori Hayashi, Masashi Nakatani, Noriko Aida, Risa Suda, Takuma Fujii, Toru Wakatsuki, Shinichiro Honda, Nobuhiro Harada, Yohei Shimono                                      | 4. 巻<br>20                |
| 2. 論文標題<br>Lack of Association of Ovariectomy-Induced Obesity With Overeating and the Reduction of Physical Activities.  | 5. 発行年<br>2019年           |
| 3. 雑誌名<br>Biochemistry and Biophysics Reports  | 6. 最初と最後の頁<br>e100671     |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br><a href="https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405580819301359?via%3Dihub">https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405580819301359?via%3Dihub</a> | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている（また、その予定である）  | 国際共著<br>-                 |

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>林孝典, 本田伸一郎, 原田信広            |
| 2. 発表標題<br>ニューロエストロゲンが摂食行動に及ぼす影響とメカニズム |
| 3. 学会等名<br>ステロイドホルモン学会                 |
| 4. 発表年<br>2018年                        |

|                                |
|--------------------------------|
| 1. 発表者名<br>林孝典, 本田伸一郎, 原田信広    |
| 2. 発表標題<br>ニューロエストロゲンが食欲に及ぼす影響 |
| 3. 学会等名<br>91回 日本生化学会大会（招待講演）  |
| 4. 発表年<br>2018年                |

|                                    |
|------------------------------------|
| 1. 発表者名<br>林孝典                     |
| 2. 発表標題<br>摂食関連因子にニューロエストロゲンが及ぼす影響 |
| 3. 学会等名<br>日本生化学会                  |
| 4. 発表年<br>2017年                    |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

| 6. 研究組織                   |                       |    |
|---------------------------|-----------------------|----|
| 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号) | 備考 |
|                           |                       |    |