

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007-2008

課題番号：19590229

研究課題名 (和文) 摂食行動を調節する視床下部外側野の性的二型性と機能的二型性

研究課題名 (英文) Sex and functional differences in the lateral hypothalamic area which controls feeding behavior

研究代表者

船橋 利也

横浜市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：70229102

研究成果の概要：200

視床下部外側野は空腹感を作り出す場所で、MCH 神経細胞もオレキシン神経細胞も空腹感をつくって摂食行動を起こす。前者は本能的、つまり全身の栄養状態に応じて活動が変化するが、後者は精神的、つまり心の状態に応じて活動が変化する。特に雌性動物はストレスに反応して摂食行動が変化し、それはオレキシン神経細胞が司っている。

交付額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|-------|-----------|-----------|-----------|
| 19 年度 | 2,000,000 | 600,000 | 2,600,000 |
| 20 年度 | 1,500,000 | 450,000 | 1,950,000 |
| 年度 | 0 | 0 | 0 |
| 年度 | 0 | 0 | 0 |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,500,000 | 1,050,000 | 4,550,000 |

研究分野：生理学

科研費の分科・細目：基礎医学・環境生理学

キーワード：性的二型性、機能的二型性、視床下部外側野、摂食行動、pCREB

1. 研究開始当初の背景

摂食行動の調節には様々な因子と神経機構が複雑に関与している。古典的には、視床下部腹内側核が満腹中枢として、視床下部外側野が空腹中枢として、それぞれ知られていたが、近年では視床下部弓状核を中心としてその下流に視床下部外側野と室傍核が位置づけられている。一方、摂食行動には性差が認められているが、その機構については不明

な点が多い。摂食障害の性差、例えば、神経性食思不振症は女性の方が罹患しやすい事を考えても、その性差の発現機序の解明は、疾患の病態解明につながる可能性がある。

2. 研究の目的

平成 19 年度には、摂食行動を駆動する視床下部外側野の性的二型性の機序を明らかにする目的で、自由行動下の摂食行動におけ

るオレキシンニューロンと melanin-concentrating hormone (MCH) ニューロンの機能的な変化を CREB のリン酸化を指標にして検討する (機能的二型性)。平成 20 年度には、両者の pCREB の役割を明らかにし、その性質の違いをグルコースとサッカリンに対する甘味の応答の違いから、明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 自由行動下のラットにおいて、摂食状態を観察し、食事と食事の間をコントロールとして、食事開始直後および食事終了後の各ニューロンにおける pCREB 発現を検討する。(2) MCH ニューロンおよびオレキシンニューロンの pCREB 発現の役割を調べるために両側の視床下部外側野に GFP で標識した欠損型ヘルペス mCREB を投与する。その後の摂食量の変化、絶食後の再摂食の変化を調べる。

(3) pCREB を発現させた状態で、栄養価も甘味もあるグルコースと、栄養価はなく甘味のみをサッカリンをそれぞれ飲ませ、各ニューロンにおける pCREB 発現の変化を検討する。

4. 研究成果

オレキシンニューロンも MCH ニューロンも絶食により pCREB を発現するが、性差のあることが明らかとなった。すなわち、48 時間の絶食は雌雄の MCH ニューロンに pCREB を発現させるが、オレキシンニューロンの場合、絶食により pCREB を発現するのは雌性のみであった。自由摂食下で調べたところ、摂食開始直後に pCREB を発現するのは MCH ニューロンのみであった。視床下部外側野のオレキシンニューロンを含めて弓状核の NPY ニューロン

や CART ニューロンには自由摂食下のどの時期でも pCREB は発現しなかった。このことは、視床下部外側野に存在し空腹系の代表的な 2 つのニューロンは、異なる目的・機序で空腹感を惹起し、摂食行動を促すと推測された。すなわちオレキシンニューロンが雌性のみで、しかも、絶食で活性化されると言うことである。

次に、両側の視床下部外側野に GFP で標識した欠損型ヘルペス mCREB (CREB の dominant negative 体) を投与し、対照群には、欠損型ヘルペス GFP を投与した。その結果、24 時間後には神経細胞に多くの GFP 発現を認めたが 1 週間後には、ほとんど発現していなかった。ヘルペスウイルスの毒性と考えられたため、より安定しているアデノウイルスを使うことにした。コントロールは β Gal を発現させ、mCREB は His-Tag で標識した。そこで 1 週間の摂食量と飲水量を測定ののち、アデノウイルスに組み込んだ mCREB を投与し、1 週間さらに摂食量と飲水量を測定して、その後、24 時間の絶食、そしてその後に摂食量と飲水量を測定した。その結果、対照群の雄性ラットと比較して、対照群の雌性ラットでは 24 時間絶食後の再摂食が過食となり、約 130% となった。しかし、mCREB 投与により過食分が消失し雄性と同様になった。同時に、摂食量そのものが雌雄ともに約 20% 低下した

次に、絶食により MCH ニューロンとオレキシンニューロンに pCREB を発現させた状態で、グルコース (栄養価および甘味) もしくはサッカリン (甘味のみで栄養価はない) を飲水させ、pCREB 発現の変化を調べた。MCH ニューロンの pCREB はグルコースによってのみ抑制され、オレキシンニューロンは両者によって pCREB 発現が抑制された。

4. 研究成果

以上の実験より、個体の保存・生得的（生まれ持ったものだが、発達や環境により変容し得る）な空腹感（MCHニューロンが作り、経験依存的・精神的（ストレスや恐怖など）な空腹感（オレキシンニューロンが作る（空腹感の二型性））、という仮説が支持された。言葉をかえれば、MCHニューロンは個体に至適な程度の空腹感（つまり摂取しないと個体を維持できない量）を作り、オレキシンニューロンは、恐怖や快・不快に影響される空腹感ということになる。

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 10 件）

- ①Hagiwara H, Funabashi T, Mitsushima D, Kimura F, 2007, Effects of neonatal testosterone treatment on sex differences in formalin-induced nociceptive behavior in rats, *Neurosci Lett*, 412:264-267
- ②Takase K, Mitsushima D, Funabashi T, Kimura F, 2007, Sex difference in the 24-h acetylcholine release profile in the premotor/supplementary motor area of behaving rats, *Brain Res*, 1154:105-115
- ③Ohtaki K, Aihara M, Takahashi H, Fujita H, Takahashi K, Funabashi T, Hirasawa T, Ikezawa Z, 2007, Effects of tributyltin on the emotional behavior of C57BL/6 mice and the development of atopic dermatitis-like lesions in DS-Nh mice, *J Dermatol Sci*, 47:209-216
- ④Tin-Tin-Win-Shwe, Mitsushima D, Yamamoto S, Fukushima A, Funabashi T, Kobayashi T, Fujimaki H, 2008, Changes in neurotransmitter levels and

proinflammatory cytokine mRNA expressions in the mice olfactory bulb following nanoparticle exposure, *Toxicol Appl Pharmacol*, 226:192-198

- ⑤Mitsushima D, Takase K, Funabashi T, Kimura F, 2008, Gonadal steroid hormones maintain the stress-induced acetylcholine release in the hippocampus: simultaneous measurements of the extracellular acetylcholine and serum corticosterone levels in the same subjects, *Endocrinology*, 149:802-811
 - ⑥Takase K, Mitsushima D, Funabashi T, Kimura, 2008, Postpubertal feeding experience affects sex-specific spatial ability in rats, *Physiol Behav*, 93:553-559
 - ⑦Murota Y, Fujii M, Sugiyama Y, Funabashi T, Yagami T, Takahashi T, Goshima Y, 2008, DOPA cyclohexyl ester, a DOPA antagonist, blocks the depressor responses elicited by microinjections of nicotine into the nucleus tractus solitarius of rats, *Neurosci Lett*, 442:114-117
 - ⑧貴邑（田中）富久子, 舩橋利也, 美津島大, 2007, 性差研究の発展のために-ラットおよびヒト脳に関する性差研究の戦略と方法-, *日本臨床*, 65:1135-1145
 - ⑨貴邑富久子, 舩橋利也, 2007, GnRH のパルス状発生器とサージ発生器-多ニューロン発射活動記録法による研究をもとに, *Horm Front Gynecol*, 14:105-110
 - ⑩舩橋利也, 貴邑富久子, 2008, 摂食行動の性差と糖代謝, *Diabetes Front* 19, 454-459
- 〔学会発表〕（計 5 件）
- ① Funabashi T, 2007, Estrogen and glucose-sensing neurons, *Sex Steroids & Energy Balance*, 89th Annual

Meeting for the Endocrine Society, シンポジウム

- ② 船橋利也, 2007, 性差から見た摂食行動調節の神経基盤, 第4回行動神経内分泌学
- ③ 船橋利也, 貴邑富久子, 2007, 摂食行動の性差. 環境ストレスに対する生理応答と性ホルモン, 第84回日本生理学会大会シンポジウム
- ④ 船橋利也, 2007, 摂食行動を調節する視床下部外側野の性差, 中枢性食欲のコントロールのメカニズム, 第28回日本肥満学会シンポジウム
- ⑤ 船橋利也, 2008, ゴナドトロピン分泌を支配するGnRH分泌調節の神経回路とその発達, ゴナドトロピン分泌制御の新知見, 第81回日本内分泌学会総会

[図書] (計 3件)

- ① 船橋利也, 高瀬堅吉, 2009, 第9章生殖系, Boron WF, Boulpaep EL, Medical Physiology, Saunders, 1105-1208, 西村出版, 新潟, 翻訳, in press, 共著・分担
- ② 船橋利也, 2009, 第15章生殖, 小澤澗司, 福田康一郎, 本間研一, 大森治紀, 大橋俊夫, 標準生理学 第7版, 医学書院, 東京, 分担, in press, 単著・分担
- ③ 船橋利也, 2009, 日本ストレス学会, ストレス科学事典, 実務教育出版, 東京, in press, 単著・分担

6. 研究組織

(1) 研究代表者

船橋 利也

横浜市立大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号：70229102

(2) 研究分担者

美津島 大

横浜市立大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号：70264603