

平成 21 年 5 月 30 日現在

研究種目： 若手研究 (B)
 研究期間： 2007 ~ 2008
 課題番号： 19790653
 研究課題名 (和文) 骨格筋のインスリンシグナルに及ぼす視床下部 - 交感神経系の調節機構とその分子機構
 研究課題名 (英文) Regulation of insulin signaling in skeletal muscle via hypothalamus-sympathetic nervous system and its molecular mechanism
 研究代表者
 志内 哲也 (SHIUCHI TETSUYA)
 生理学研究所・発達生理学研究室・助教
 研究者番号：70372729

研究成果の概要：

本研究により、自発的な甘味飲料の摂取が、視床下部オレキシン・ニューロンを活性化し、視床下部腹内側核-交感神経- β 2 アドレナリン受容体経路を介して骨格筋でのグルコース代謝を促進することが明らかとなった。上記経路を介したオレキシンシステムは、味覚刺激を伴う報酬作用により賦活化し、骨格筋における糖代謝を調節することで、生体内の恒常性を巧みに維持および制御すると考えられ、同時に、この経路の破綻は、肥満や糖尿病の形成につながる可能性がある。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,700,000	0	1,700,000
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	480,000	3,780,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内分泌学

キーワード：内分泌学・視床下部 - 交感神経系・骨格筋・糖代謝・オレキシン

1. 研究開始当初の背景

生活習慣病の危険因子である「肥満」が、糖尿病や高血圧などのメタボリックシンドロームの発症に大きく関与していることは、今日、広く認知されている。骨格筋はヒトの体内で最大のエネルギー消費活動の場であり、インスリン感受性に対して非常に重要な役割を担っている。骨格筋における代謝を調節する因子としては、インスリンやアドレナリンなどの内分泌系と、筋収縮な

どの運動系が知られているが、近年では、視床下部 交感神経系を代表とする神経系が、骨格筋のみならず生体の糖・脂質代謝を制御する重要な調節機構の一つであることが認識されつつある。

視床下部の中でもとりわけ視床下部腹内側核 (VMH) は、生体のエネルギーバランスを調節する非常に重要な部位であることが指摘されている。申請者らはレプチン

をVMHに投与すると、交感神経系を介して骨格筋におけるグルコースの取り込みを促進すること、また骨格筋でのインスリン感受性を増強することを報告してきたが、その分子メカニズムの詳細は不明であった。

VMHにはレプチン受容体以外に、オレキシン受容体が豊富に存在することが確認されている。申請者らは、神経ペプチドであるオレキシンをVMHに投与すると、骨格筋における糖の取り込みを促進し、インスリン感受性を高めるという結果を得たが、レプチンの場合と同様、その分子メカニズムは不明であった。

肥満を伴う2型糖尿病ではレプチン抵抗性があり、現在、他の治療薬や治療法の開発が世界中で模索されている。視床下部で分泌されたオレキシンがレプチン抵抗性を有する肥満患者のインスリン抵抗性改善に重要な役割を果たしているとするれば、医学生理学的にも非常に意義深いと考えられる。

2. 研究の目的

本研究においては、神経ペプチドであるオレキシンによる糖代謝作用に焦点を当て、視床下部-交感神経系を介した骨格筋におけるインスリン感受性の変化を分子レベルで明らかにすることで、生体内エネルギー代謝における視床下部の重要性について解明することを目的とした。

3. 研究の方法

マウスは、実験の2週間前に視床下部腹内側核へ金属製の微小脳カニューレを挿入・留置し、また必要であれば、実験の3日前に頸静脈へカテーテルを挿入・留置した。

無麻酔・非拘束下においてラジオアイソトープを用いた2DG法やクランプ法、糖負荷試験などのin vivo代謝実験により、全身および各末梢組織における糖代謝およびインスリン感受性を測定した。

骨格筋内におけるシグナル伝達分子のリン酸化は免疫沈降法およびウエスタンブロット法を用いて検出した。また、各酵素活性はラジオアイソトープを用いて測定した。

アドレナリン受容体ノックアウトマウスの骨格筋に2アドレナリン受容体を遺伝子導入する方法は、エレクトロポレーション法を用いた。

4. 研究成果

(1) オレキシンAを視床下部腹内側核(VMH)に投与すると、骨格筋に分布する交感神経活性が上昇したのに加え、骨格筋におけるグルコースの取り込みが上昇した。

また、骨格筋においてグルコースの取込みに関与する分子であるIRS-1、PI3-kinase、Akt、AS160の活性化およびリン酸化が、オレキシンの投与により増加した。

(2) インスリンによる骨格筋でのグリコーゲン合成酵素活性ならびにグリコーゲン合成速度は、オレキシンAをVMHに投与すると、インスリン単独投与の場合より増強した。また、骨格筋におけるAktおよびGSK3のリン酸化は、オレキシンA投与により増強し、インスリンとの併用投与によりさらに増強した。一方、インスリン受容体のリン酸化はオレキシン投与単独では変化がなかったにもかかわらず、インスリン投与によるインスリン受容体のリン酸化がオレキシン投与により増強した。

(3) オレキシンによるグルコース取り込みおよびグリコーゲン合成促進作用は、アドレナリンβ受容体ノックアウト(β-less)マウスでは起こらなかった。Electroporation法により骨格筋特異的プロモーターであるHSA-promoterを用いてβ2受容体をβ-lessマウスの骨格筋に発現させると、オレキシンによるグルコース取込み促進作用が回復したが、グリコーゲン合成促進作用は回復しなかった。そこで、非特異的プロモーターであるCAG-promoterを用いて標的骨格筋周辺にβ2受容体を発現させると、オレキシンによるグリコーゲン合成促進作用が回復した。組織学的にGFP発現を調べると、どちらのプロモーターを用いた場合でも骨格筋細胞においてGFPの発現は認められたが、CAG-promoterを用いた場合では血管壁においてもGFPの発現が見られたのに対し、HSA-promoterを用いた場合では見られなかった。

(4) サッカリン溶液を用いてマウスに自発的な引水行動を誘発させると、オレキシン・ニューロンの活性化が見られた。そこでサッカリン溶液摂取後、インスリンを静脈内投与すると、骨格筋におけるグルコースの取込み及びグリコーゲン合成速度が増強した。この作用は、VMHへのオレキシン受容体拮抗薬の投与あるいは2アドレナリン受容体拮抗薬の腹腔内投与により抑制された。

(5) 以上の結果より、オレキシンはVMH-交感神経-β2受容体経路を介して、骨格筋における糖代謝を調節すると考えられる。また、上記経路によるオレキシンシステムは、味覚刺激を伴う報酬作用により賦活化し、骨格筋における糖代謝を調節することで、生体内の恒常性を巧みに維持および制御す

ると考えられ、同時に、この経路の破綻は、肥満や糖尿病の形成につながる可能性がある。

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6件)

Minokoshi Y, Shiuchi T, Lee S, Suzuki A, Okamoto S. **Role of hypothalamic AMP-kinase in food intake regulation.** *Nutrition*. 24: 786-790. 2008 (査読有り)

Fujimoto W*, Shiuchi T*, Miki T, Minokoshi Y, Takahashi Y, Takeuchi A, Kimura K, Saito M, Iwanaga T, Seino S. **Dmbx1 is essential in agouti-related protein action.** *Proc Natl Acad Sci U S A*. 104: 15514-15519. 2007 (* is equally contributed) (査読有り)

Kubota N, Yano W, Kubota T, Yamauchi T, Itoh S, Kumagai H, Kozono H, Takamoto I, Okamoto S, Shiuchi T, Suzuki R, Satoh H, Tsuchida A, Moroi M, Sugi K, Noda T, Ebinuma H, Ueta Y, Kondo T, Araki E, Ezaki O, Nagai R, Tobe K, Terauchi Y, Ueki K, Minokoshi Y, Kadowaki T. **Adiponectin stimulates AMP-activated protein kinase in the hypothalamus and increases food intake.** *Cell Metab*. 6: 55-68. 2007 (査読有り)

Tanaka T, Masuzaki H, Yasue S, Ebihara K, Shiuchi T, Ishii T, Arai N, Hirata M, Yamamoto H, Hayashi T, Hosoda K, Minokoshi Y, Nakao K. **Central melanocortin signaling restores skeletal muscle AMP-activated protein kinase phosphorylation in mice fed a high-fat diet.** *Cell Metab*. 5: 395-402. 2007 (査読有り)

Miura S, Kawanaka K, Kai Y, Tamura M, Goto M, Shiuchi T, Minokoshi Y, Ezaki O. **An increase in murine skeletal muscle peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1alpha (PGC-1alpha) mRNA in response to exercise is mediated by beta-adrenergic receptor activation.** *Endocrinology*. 148: 3441-3448. 2007 (査読有り)

Suzuki A, Okamoto S, Lee S, Saito K, Shiuchi T, Minokoshi Y. **Leptin stimulates fatty acid oxidation and**

peroxisome proliferator-activated receptor alpha gene expression in mouse C2C12 myoblasts by changing the subcellular localization of the alpha2 form of AMP-activated protein kinase. *Mol Cell Biol*. 27: 4317-4327. 2007 (査読有り)

[学会発表](計8件)

第29回日本肥満学会(2008年10月17日)

骨格筋でのグリコーゲン代謝に及ぼす視床下部オレキシンの調節作用

志内哲也、岡本土毅、鈴木敦、李順姫、戸田知得、箕越靖彦(大分県大分市)

第63回日本体力医学会大会(2008年9月18日)

骨格筋でのグリコーゲン合成に及ぼす視床下部オレキシンの調節作用

志内哲也、箕越靖彦(大分県別府市)

第5回インスリン抵抗性とメタボリックシンドローム研究会(2008年7月26日)

視床下部オレキシンは交感神経を介して骨格筋のグルコース代謝を調節する

志内哲也、鈴木敦、岡本土毅、箕越靖彦(東京都)

生理研研究会(2008年2月28日)

骨格筋でのグルコース代謝に及ぼす視床下部オレキシンの調節作用

志内哲也(愛知県岡崎市)

第28回日本肥満学会(2007年10月19日)

骨格筋でのグルコース利用を促進する視床下部オレキシン・ニューロンの調節作用とその意義

志内哲也、岡本土毅、鈴木敦、影山晴秋、李順姫、戸田知得、斉藤久美子、塩田清二、箕越靖彦(東京都)

5th Congress of International Society for Autonomic Neuroscience(2007年10月8日)

Orexins increase glucose uptake in skeletal muscle via the hypothalamus-sympathetic nervous system-b2-adrenergic pathway

T. Shiuchi, S. Okamoto, A. Suzuki, S. Lee, C. Toda, K. Saito, Y. Minkoshi (京都府京都市)

第62回日本体力医学会大会(2007年9月14日)

視床下部オレキシンは交感神経系を活性化して骨格筋でのグルコース利用を促進する

(大塚スポーツ医科学奨励賞受賞)

志内哲也、箕越靖彦(秋田県秋田市)

第4回GPCR研究会(2007年5月12日)

オレキシンによる骨格筋インスリン感受性増強メカニズムとその意義

志内哲也、岡本土毅、鈴木敦、李順姫、戸田知得、斉藤久美子、箕越靖彦(東京都)

6. 研究組織

(1)研究代表者

志内 哲也 (SHIUCHI TETSUYA)

生理学研究所・発達生理学研究室・助教

研究者番号：70372729

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし