

## 自己評価報告書

平成23年 4月11日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2011

課題番号：20390056

研究課題名（和文） 食餌同期性概日リズムを刻む視床下部背内側核ニューロンの機能解析

研究課題名（英文） Function of food-entrainable clock neurons in the dorsomedial hypothalamic nucleus

研究代表者

三枝 理博 (MIEDA MICHIIRO)

金沢大学・医学系・准教授

研究者番号：20296552

研究分野：神経科学

科研費の分科・細目：基礎医学・生理学一般

キーワード：概日リズム, 摂食, 視床下部, マウス, ニューロン

## 1. 研究計画の概要

毎日固定した一定時間帯でのみ餌が得られる環境下（時間的食餌制限）では、動物は給餌前数時間にわたり食物探索行動を示し、給餌時間内に十分量摂食するように順応する。この食餌同期性概日行動リズムは、哺乳類の概日リズム制御中枢・視交叉上核（SCN）とは別の生物時計（食餌同期性クロック）によって制御される。我々は以前、視床下部背内側核（DMH）が食餌同期性クロックの有力な候補部位であることを見いだした。食餌同期性クロックは環境、生活習慣への適応、不適応のメカニズムを理解する上で重要であると考え、本研究ではDMH食餌同期性クロック（DOMFEC）ニューロンを突破口とし、食餌同期性概日リズム制御の神経メカニズムを明らかにすることを目的とする。

## 2. 研究の進捗状況

申請者は、食餌同期性概日リズムの制御において、DMHにおける時計遺伝子の機能が重要であるとの仮説の基、本研究計画を提案し、遂行してきた。しかしながらこの2-3年に、DMHのみならず時計遺伝子の関与に関してさえ否定的な報告がなされた。

申請者らは神経系特異的に時計遺伝子 *Bmal1* を欠損したマウスを作成・解析し、神経系における時計遺伝子・概日時計が食餌同期性活動リズムの出現に必須であり、この時計を欠損すると自発活動リズムだけでなく摂食調節機構も時間的食餌制限に適応できず、体重を維持できないことを明らかにした。時計遺伝子が関与しないとの先行報告には問題点があり、それを踏まえた統合的な説明

を提示した。またDMHの関与に関してもごく最近、先行論文との違いを踏まえた上で「やはりDMHが重要である」との報告がなされている。従って、本研究課題の妥当性・重要性が確認された。

さらに、DMHを含む前脳腹側部（SCNは除く）特異的な *Bmal1* 欠損マウスにおいて、食餌同期性活動リズムの減弱を確認した。またこのマウスは自由摂食下でも活動期の自発活動パターンに異常が生じることから、SCNは大まかな夜行性の活動パターンを決定し、詳細な活動リズムの表出にはSCN外の前脳腹側部に存在する概日時計が必要であることを示した。

Creリコンビナーゼ依存的に神経軸索トレースを発現する組換えアデノ随伴ウイルスを作成し、DOMFECニューロンを特異的にラベルする方法を確立した。予備的な実験によるとDOMFECニューロンの投射はDMH内に留まっており、局所的な神経回路を形成していることが示唆された。

また *Per2-luciferase* レポーターマウスを用い、DOMFECニューロンを含む脳領域の *explant culture* において時計遺伝子発現の概日リズムを観察することに成功した。

## 3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

（理由）

前項で述べたように、本研究課題を取り巻く学術的環境が変化したが、神経系特異的 *Bmal1* 欠損マウスを解析することにより、食餌同期性概日リズムへの時計遺伝子の関与に関するここ2-3年の論争に終止符を打つと思われる結果を得ることができ、本研究課

題の妥当性・重要性も確認できた。さらに、今まであまりはっきりしていなかった食餌同期性クロックの生理的役割について、食物探索行動を惹起するだけでなく、時間的食餌制限下での効率的な摂食にも必要で、欠損すると体重が維持できないことを示すことができた。さらに前脳腹側部の概日時計が食餌同期性概日リズムに重要であるとの結果が得られつつあり、「やはり食餌同期性クロックはどこにあるのか見当もつかない」との最近の研究動向を覆し、食餌同期性クロックの神経基盤の解明に向けた結果を得ることができそうな状況である。

#### 4. 今後の研究の推進方策

前述の神経系特異的 Bmal1 欠損マウス、前脳腹側部特異的 Bmal1 欠損マウスの詳細な解析を進める。例えば、「食餌同期性クロックが欠損するとなぜ摂食量が減少するのか」を追求する。特に「時間的食餌制限下においては、時間内に効率よく摂食できるように、食餌に伴う CCK 等を介した満腹シグナルを食餌同期性クロックが減弱する」との仮説を検証する。また、神経系の食餌同期性クロックが、末梢臓器における概日時計・生理機能の時間的食餌制限への適応に果たす役割を、主に Per2-Luciferase レポーターマウスを用いて調べていく。

また前述のように、今までの研究で領域特異的・細胞特異的 BMAL1 欠損マウスの解析が、食餌同期性クロックの研究に有効であることが明らかになったので、さらに他の領域特異的・細胞特異的 BMAL1 欠損マウスの解析を進め、食餌同期性クロックの神経メカニズムに迫っていく。

#### 5. 代表的な研究成果

(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 5 件)

- ① Mieda M\*, Hasegawa E, Kisanuki YY, Sinton, CM, Yanagisawa M, Sakurai T\*. Differential roles of orexin receptor-1 and -2 in the regulation of non-REM and REM sleep. *J. Neurosci.*, in press, 査読有, \* corresponding author
- ② Nagata-Kuroiwa R, Furutani N, Hara J, Hondo M, Ishii M, Abe T, Mieda M, Tsujino N, Motoike T, Yanagawa Y, Kuwaki T, Yamamoto M, Yanagisawa M, Sakurai T. Critical role of neuropeptides b/w receptor 1 signaling in social behavior and fear memory. *PLoS One*, 24(2011), e16972. 査読有
- ③ Sakurai T, Mieda M. Connectomics of

Orexin-producing Neurons: Interface of Systems of Emotion, Energy Homeostasis and Arousal. *Trends Pharmacol. Sci.*, in press, 査読有

- ④ Sakurai T, Mieda M, Tsujino N. The orexin system: roles in sleep/wake regulation. *Ann N Y Acad Sci.*, 1200(2010), 149-161, 査読有
- ⑤ Mieda M, Sakurai T. Integrative physiology of orexins and orexin receptors. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 8(2009), 281-295, 査読有

[学会発表] (計 5 件)

- ① Mieda M, Hasegawa E, Kessaris N, Tanaka K, Sakurai T. Extra-SCN expression of BMAL1 in the ventral forebrain generates the precise circadian pattern of locomotor activity. 第 116 回日本生理学会, 2011 年 3 月 (震災のため誌上開催)
- ② Hasegawa E, Mieda M, Kisanuki YY, Sinton, CM, Yanagisawa M, Sakurai T. Differential roles of orexin receptor-1 and -2 in the regulation of non-REM and REM sleep. 第 116 回日本生理学会, 2011 年 3 月 (震災のため誌上開催)
- ③ Sasaki K, Suzuki M, Mieda M, Sakurai T. Pharmacogenetic modulation of orexin neurons alters behavioral states in mice. 第 116 回日本生理学会, 2011 年 3 月 (震災のため誌上開催)
- ④ Tsujino N, Saito Y, Hondo M, Mieda M, Sakurai T. Functional and histological interaction between preoptic area GABAergic neurons and orexin neurons. 第 116 回日本生理学会, 2011 年 3 月 (震災のため誌上開催)
- ⑤ Abe T, Mieda M, Tanaka K, Yanagisawa M, Sakurai T. Both OX1R and OX2R orexin receptors mediate efferent signals of orexin neurons in eliciting food-anticipatory activity. 36th International Congress of Physiological Sciences, 2009. 7. 29, 京都国際会議場 (京都府)