

平成 22 年 6 月 4 日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20790656

研究課題名(和文) 視床下部室傍核による食餌嗜好性制御メカニズムの解明

研究課題名(英文) Regulatory role of AMP-kinase in the paraventricular hypothalamus in calorie intake and food preference.

研究代表者

岡本 士毅 (OKAMOTO SHIKI)

生理学研究所・発達生理学研究系・助教

研究者番号：40342919

研究成果の概要(和文)：視床下部は、動物個体のエネルギー代謝を自律的に調節しており、視床下部 AMP キナーゼ (AMPK) が、レプチンやグルコースなどのシグナル分子として摂食行動を調節することが明らかとなった。活性型 AMPK をコードするレンチウイルスベクターを視床下部室傍核 (PVN) に発現させ、同時に二種類の食餌を自由に選択摂食させると、対照マウスは高脂肪食を摂食するが、活性型 AMPK 発現群は高蔗糖食を多く摂食した。この嗜好性制御機構は PVN における AMP キナーゼ-脂肪酸酸化亢進を介するが、肥満するとこのメカニズムが破綻し、PVN の AMPK 活性が低下し、高脂肪食への嗜好性が更に亢進し、肥満を助長する事が明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Hypothalamic AMP-kinase regulates feeding behavior in response to hormonal and nutrient signals. Here I report that preferential expression of constitutively-active AMP-kinase (CA-AMPK) in the PVH bilaterally using lenti-virus vector (neuron specific-synapsin 1 promoter) increased food intake and body weight under lab chow diet. Furthermore, CA-AMPK mice increased the preference for high carbohydrate diet, by enhancing fatty acid oxidation in the PVH. In contrast, diet-induced as well as KKAY obese mice increased the preference for HFD, associated with paradoxically decreased AMPK activity and FAO in the PVH.

Thus, my results suggest that AMPK-FAO in the PVH regulates the preference for carbohydrate and fat diets. Furthermore, obese mice impair the AMPK-FAO system in the PVH and thereby increase HFD intake.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：脳・神経、ウイルス、メタボリックシンドローム、AMP キナーゼ

## 1. 研究開始当初の背景

AMP キナーゼは、酵母から植物、哺乳動物に至る、ほとんどすべての細胞に発現するセリン・スレオニンキナーゼであり、細胞内エネルギーレベルの低下によって活性化し、ATP レベルを回復させる酵素として知られている。AMP キナーゼは、レプチン・アディポネクチン・レジスチン等の代謝調節ホルモン、並びに運動によって活性が変化し、骨格筋、肝臓、白色脂肪細胞などにおいて糖・脂質代謝に調節作用を営む。また視床下部の AMP キナーゼ活性が摂食行動の調節に関与する事を、申請者の所属部門教授・箕越は、アデノウイルスを用いて変異 AMPK を内側視床下部に発現させることにより、体重・摂食量が増加することを示している (Nature 2004)。これまでに私は、摂食行動と代謝調節への視床下部 AMP キナーゼの関与をより長期間で解明するため、レンチウイルスベクターと視床下部に慢性的に選択的に持続活性化型変異 AMPK (CA-AMPK) を発現させ観察したところ、対照群に比べ有意に摂食量が増加し、体重が大幅に上昇する事を見いだした。更に興味深い事に高脂肪食よりも高炭水化物食 (蔗糖含有) を多く摂食していた。そこで CA-AMPK マウスの嗜好性を調べるため、同じケージ内で2種類の餌を同時に選択し摂食できる行動計測ケージを独自に考案し、高脂肪食と高蔗糖食を自由に選択させた時の各々の摂食量を測定した。すると、対照マウスは高脂肪食を主として摂取するのに対し、CA-AMPK マウスは高蔗糖食を多く摂取した。嗜好性を変化させる脳内機構を検討するため、CA-AMPK マウスの視床下部各神経核における代謝酵素、ホルモン、ニューロペプチドの mRNA 発現の変動を検討すると、CA-AMPK を発現した室傍核でのみ、PPAR $\alpha$  やその標的遺伝子である FATP1 (fatty acid transport protein1)、ACS (Acyl-CoA synthetase)、CPT1c (carnitine palmytoyltransferase 1c 型) など、脂肪酸酸化に関わる転写因子、代謝酵素の発現が亢進していた。さらに、AMP キナーゼの標的蛋白質の一つであり、ミトコンドリアでの脂肪酸酸化調節に関わる acetyl-CoA carboxylase (ACC) のリン酸化も亢進していた。AMP キナーゼによって ACC がリン酸化されると、ACC 活性が抑制され、産物である malonyl-CoA 量が低下する。malonyl-CoA はミトコンドリアへの脂肪酸の取り込みに関与する酵素 CPT1 の強いアロステリック阻害剤なので、CPT1 活性

が上昇し、脂肪酸酸化が亢進する。申請者の示す実験結果は、CA-AMPK が PVH において脂肪酸酸化関連遺伝子の発現を高め、かつ CPT1 活性を上昇させることによって、脂肪酸酸化が亢進することを示唆する。

そこで PVH での脂肪酸酸化と嗜好性との関連を調べるため、CPT1 遮断薬である etomoxir を CA-AMPK マウス PVH に前投与して嗜好性に及ぼす影響を調べた。すると高蔗糖食を食べていた CA-AMPK マウスが、高脂肪食を食べる嗜好性に完全に逆転した。従って CA-AMPK が PVH における脂肪酸酸化を促進し、高蔗糖食に対する嗜好性を高めることが明らかとなった。更に予備実験ではあるが、AMP キナーゼによる嗜好性制御作用がどのような生理的条件下で機能しているかを明らかにする目的で、絶食後における再摂食の効果を調べた。絶食により PVH・AMP キナーゼ活性は亢進することが明らかにされているが、再摂食させたマウスは、CA-AMPK マウスと同様に高蔗糖食の摂食量が有意に増加した。しかし etomoxir を再摂食前に投与すると、高脂肪食の摂食量が増加した。また摂食促進物質である NPY を投与すると、高蔗糖食の摂食量が増加し、etomoxir を再摂食前に投与すると、やはり高脂肪食の摂食量が増加した。以上の実験結果から、人為的にレンチウイルスにより PVH・AMP キナーゼ活性を上昇させた際と同様に、絶食-再摂食のような生理的条件下においても、PVH における AMP キナーゼの上昇とそれに伴う脂肪酸酸化の亢進が嗜好性の変化に必須であることが予想される。しかし、NPY を含む摂食促進因子と PVH・AMP キナーゼ活性との関連や、脂肪酸酸化亢進による炭水化物摂食亢進に至る脳内機構については全く不明である。

## 2. 研究の目的

AMP キナーゼは、近年、肥満・糖尿病の分野でとりわけ注目されるキナーゼである。私は持続活性化型 AMP キナーゼを、レンチウイルスベクターを用いてマウス視床下部室傍核に局限して発現させると、感染マウスは過食になり肥満する事を見いだした。更に興味深い事にこのマウスは脂肪食よりも炭水化物食を好む事が判明し、その制御に室傍核における脂肪酸酸化が関与する事を明らかにした。そこで本研究計画では、視床下部 AMP キナーゼによる食餌嗜好性制御機構の解明を目的とし、摂取する栄養素を感知し選択し、

摂食行動を制御する視床下部の新しい機能を明らかにする。

### 3. 研究の方法

マウス視床下部室傍核(PVH)のAMPキナーゼ活性を上昇させると、脂肪酸酸化が亢進し、炭水化物摂取の嗜好性に变化する事を見出した。この嗜好性の变化は絶食後の再摂食時にも生じる事から、PVHにおけるAMPキナーゼの活性化は低栄養からの回復時など生理的に必須の摂食調節機構であると思われる。

本研究ではAMPキナーゼを中心に、視床下部における嗜好性制御メカニズムを解明する。

まずPVH・AMPキナーゼ活性を変化させる得る摂食調節因子による食餌嗜好性に対する変化を検討し、解剖学的知見と併せてPVHのAMPキナーゼを活性化させ嗜好性を変化させる脳内機構を検索する。また脂肪酸酸化亢進から炭水化物摂取へ至る分子メカニズムを、特に脂肪酸代謝産物である長鎖脂肪酸アシルCoAに着目し検討する。更にPVHに含まれる神経細胞の活動電位を無麻酔・無拘束下で計測しつつ摂食行動を観察し、嗜好性制御中枢としてのPVHの役割を同定する。

### 4. 研究成果

視床下部は、動物個体のエネルギー代謝を自律的に調節しており、視床下部AMPキナーゼ(AMPK)が、レプチンやグルコースなどのシグナル分子として摂食行動を調節することが明らかとなった。これまでに活性化AMPKをコードするレンチウイルスベクターを視床下部室傍核(PVN)に発現させると、マウスが過食となり、肥満する事を見出した。感染マウスと同時に二種類の食餌を自由に選択摂食させると、対照マウスは高脂肪食を摂食するが、活性化AMPK発現群は高蔗糖食を多く摂食した。そしてこの嗜好性変化はPVNにおける脂肪酸酸化亢進に起因する事を明らかにした。

同様の嗜好性変化は、絶食後の再摂食時にも生じた。絶食時に増加する強力な摂食量増加作用をもつNPYをマウスPVNに投与すると、メラノコルチン受容体系と同様にPVNにおけるAMPKを活性化し、脂肪酸酸化を亢進させる事で炭水化物摂取量を増加させた。更にPVNにおけるAMPKの活性化は、CAMKK活性化に起因する事を明らかにした。このようなPVNにおけるAMPキナーゼの活性化は低栄養からの回復時など生理的に必須の摂食調節機構と考えられる。しかし肥満動物を用いて絶食後の再摂食時における嗜好性変化を測定したところ、対照マウスとは異なり高脂肪食の摂食量が大きく増加した。そこで肥満動物のPVNにおけるAMPK活性を測定すると、絶食時にも関わらずAMPK活性は抑制され、脂肪酸酸化も亢進しな

かった。つまり肥満によりPVNのAMPK活性が低下すると、高脂肪食への嗜好性が更に亢進し、肥満を助長してしまうと考えられる。肥満動物のPVNにおける活性化AMPKの局在部位を免疫組織科学的手法で検出すると、やせ型動物に比べ、大幅に減少していた。逆に肥満動物のPVNでは、有為にGABA含有量が上昇していた。またGABA<sub>A</sub>受容体アゴニストを絶食後の再摂食時に脳内投与すると、やせ型マウスでも高脂肪食の摂食量が増加した。つまり肥満によりPVNへのGABA入力が増加し、PVNのAMPK活性が低下し、高脂肪食への嗜好性が更に亢進し、肥満を助長する事が明らかになった。

### 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)

[学会発表] (計6件)

- ① 視床下部室傍核による食餌嗜好性制御メカニズムの解明 岡本土毅、箕越靖彦 (第30回日本肥満学会シンポジウム1「ヒトの肥満・摂食異常のためのモデル動物」、2009, 10, 9、静岡県、アクティシティ浜松)
- ② 視床下部室傍核AMPキナーゼによる食餌嗜好性の調節作用 岡本土毅、箕越靖彦 (第32回日本神経科学大会 シンポジウム「脳における新規エネルギー・センシング機構と摂食調節」、2009, 9, 16、愛知県、名古屋国際会議場)
- ③ **Paraventricular hypothalamic AMPK regulates macronutrient selection of carbohydrate and fat diets** 岡本土毅、箕越靖彦 (第36回国際生理学会 (International Union of Physiological Sciences (IUPS)、2009, 7, 31、京都府、国立京都国際会館)
- ④ 視床下部室傍核AMPキナーゼによる食餌嗜好性の調節作用 岡本土毅、箕越靖彦 (第82回日本内分泌学会学術総会 メインシンポジウム2「中枢摂食機構と肥満の最前線」、2009, 4, 24、群馬県、群馬県民会館)
- ⑤ 視床下部室傍核による食餌嗜好性抑制メカニズムの解明 岡本土毅、箕越靖彦 (第29回肥満学会、2008. 10. 17、大分全日空ホテル オアシスタワー)
- ⑥ 食餌嗜好性に及ぼす視床下部AMPキナーゼの調節作用 岡本土毅、箕越靖彦 (第51回日本糖尿病学会、2008. 5. 24、東京国際フォーラム)

〔図書〕（計1件）

- ①最新医学・第63巻・第10号 特集 大きく変わる肥満症のとりえ方-摂食とエネルギー消費のバランス機- AMPK と摂食調節 （最新医学社）岡本土毅 箕越靖彦

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡本土毅 (OKAMOTO SHIKI)

生理学研究所・発達生理学研究室・助教

研究者番号：40342919