

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：32676

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06931

研究課題名(和文) 中枢ドパミン神経によるエネルギー代謝調節機構の解明

研究課題名(英文) Research in regulation of central dopaminergic functions on energy homeostasis

研究代表者

池田 弘子 (Ikeda, Hiroko)

星薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：70297844

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では中枢神経によるエネルギー調節機構を解明する一環で、中枢のドパミン神経による摂食調節および血糖調節について研究した。その結果、摂食調節を担う視床下部外側野のドパミンD1およびD2受容体は摂食行動を抑制的に調節することや、食の嗜好性に関わる側坐核のドパミンD2受容体は摂食行動には関与しないことが示唆された。また、視床下部外側野および側坐核のドパミンD2受容体は血糖上昇作用を有することが示された。さらに、1型糖尿病ではこの血糖上昇作用が認められなかった。以上より、中枢神経はエネルギー調節において重要な役割を果たし、糖尿病時にその調節機構が変化することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肥満や糖尿病といった生活習慣病は、その悪化により心筋梗塞や脳梗塞などの重篤な疾患を合併することが知られる。肥満や糖尿病の対策としては、食事量を適切に保ち、血糖値を厳密にコントロールすることが有効である。本研究では、新たな調節機構として中枢のドパミン神経に着目し、視床下部ならびに側坐核に投射するドパミン神経が摂食行動や血糖値を調節することを明らかにした。肥満や糖尿病の罹患数は増加していることから、摂食調節や血糖調節のメカニズムの解明は、新たな治療戦略に繋がり、社会的意義は高いと考える。

研究成果の概要(英文)：The present study investigated the role of central dopaminergic functions in regulation of feeding behavior and plasma glucose levels. Our results indicated that stimulation of dopamine D1 and D2 receptors in the lateral hypothalamus inhibits feeding behavior. In addition, stimulation or inhibition of dopamine D2 receptors in the nucleus accumbens did not affect feeding behavior. In contrast, stimulation of dopamine D2 receptors in both the lateral hypothalamus and the nucleus accumbens increased plasma glucose levels. Moreover, this effect was diminished in diabetic models. These results suggest that central dopaminergic functions play important roles in regulation of feeding behavior and plasma glucose levels, and that this regulation is changed in diabetes mellitus.

研究分野：神経科学

キーワード：摂食調節 血糖調節 ドパミン受容体 糖尿病

1. 研究開始当初の背景

肥満や糖尿病といった生活習慣病の罹患率は、生活習慣の変化に伴って年々増加している。生活習慣病の悪化は心筋梗塞や脳梗塞などの重篤な疾患を合併し、患者の QOL を著しく低下させることから、その改善は QOL を維持する上で重要である。

食事療法は肥満や糖尿病の対策として有効であるが、食事はエネルギー摂取としての役割だけでなく“楽しみ”や“満足”といった報酬的側面もあり、食事量の調節は簡単ではないのが現状である。摂食行動は視床下部により調節され、古くから視床下部外側野は摂食中枢、視床下部腹内側核は満腹中枢であるとされてきた。しかしながら、摂食調節機構には不明な点も多いのが現状である。申請者は、腹側被蓋野や黒質緻密部から視床下部外側野へ投射するドパミン神経が摂食行動を調節することを明らかにした (Biochem Biophys Res Commun 519, 547-552, 2019)。

一方、糖尿病は慢性的な高血糖状態を主徴とする疾患であるため、糖尿病治療において全身の血糖調節機構を理解し、血糖値を適切にコントロールすることが重要となる。血糖値はグルカゴンやインスリンなどのホルモンや全身での糖利用、肝臓での糖産生により調節される。最近になって、血糖値は中枢神経によっても調節される可能性が指摘されている。申請者は、統合失調症治療薬のオランザピンが中枢に作用し、交感神経を介して血糖値を上昇させることを明らかにした (Diabetes Obes Metab 15, 1128-1135, 2013; Neuroendocrinology 98, 224-232, 2013)。オランザピンは、ドパミン D₂ 受容体をはじめ様々な受容体を拮抗することから、それらが血糖調節に関わる可能性が考えられる。

このように、摂食調節や血糖調節に中枢のドパミン神経が関与することが明らかになり、中枢のドパミン神経はエネルギー代謝調節において中心的役割を果たす可能性が考えられる。

申請者は、腹側被蓋野・黒質緻密部から視床下部外側野に投射するドパミン神経が摂食調節を担うことを明らかにしたが、腹側被蓋野からは側坐核へドパミン神経が投射していることから、側坐核へ投射するドパミン神経も摂食調節や血糖調節に重要な役割を果たす可能性がある。

2. 研究の目的

本研究では、腹側被蓋野および黒質緻密部から視床下部外側野に投射するドパミン神経ならびに腹側被蓋野から側坐核に投射するドパミン神経が摂食調節や血糖調節においてどのような役割を果たすのか明らかにすることを目的とした。さらに、摂食調節と血糖調節の関連を明らかにする目的で、食餌誘発性肥満モデルマウスや慢性的な高血糖状態を示す糖尿病モデルマウスを用いて、ドパミン神経による摂食調節ならびに血糖調節がどのように変化するか検討した。具体的には以下の通りである。

- (1) 視床下部のドパミン受容体によるエネルギー調節
- (2) 側坐核のドパミン受容体によるエネルギー調節
- (3) 肥満モデルおよび糖尿病モデルにおけるドパミン受容体によるエネルギー調節の変化

3. 研究の方法

実験動物

実験には ICR 系雄性マウスまたは C57BL/6J 系雄性マウスを用いた。

1 型糖尿病モデルとして、ICR 系雄性マウスに streptozotocin (STZ) を投与したマウスならびに C57BL/6J 系雄性マウスに高脂肪飼料を 16 週間負荷した食餌誘発性肥満 (DIO) マウスを使用した。なお、DIO マウスは高血糖やインスリン抵抗性といった 2 型糖尿病様の症状を示すことが知られている。

本実験は、星薬科大学動物実験指針に従い、星薬科大学動物実験委員会の承認を得た上で、動物に対する倫理面を十分に考慮して行った。

脳内への薬物の微量注入

麻酔下で ICR 系雄性マウスの両側の視床下部外側野または側坐核にガイドカニューレを植立し、3 日間の回復期間を経た後に実験を行った。

摂食量の測定

1 時間測定ケージに馴化させた後、ガイドカニューレを通じて各薬物を投与し、通常飼料を与え、摂食量を 1 時間ごとに 6 時間測定した。

血糖値の測定

薬物投与前および薬物投与後 15、30、60、90、120、180 分にマウスの尾側静脈から採血を行い、採取した血液を 1,200 × g で遠心分離し、上清中のグルコース量をグルコース CII テストワコー（和光純薬工業）を用いて測定した。

肝臓グリコーゲン量の測定

薬物を投与後に肝臓を採取し、肝臓中のグリコーゲン量を Glycogen Colorimetric Assay kit (Bio Vision) を用いて測定した。

RT-PCR 法

薬物を投与した後に、マウスの肝臓を採取し、RNAiso Plus (タカラバイオ) を用いて total RNA を抽出した。cDNA の作製には、PrimeScript® RT reagent Kit (タカラバイオ) を使用した。得られた cDNA を用いて、glucose-6-phosphatase (G6Pase) ならびに phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) の mRNA の発現変化について PCR 法により測定した。

また、各薬物を投与した 1 時間後に視床下部を摘出した。NucleoSpin® RNA kit (Macherey-Nagel) を用いて total RNA を抽出した後に逆転写により DNA を作成し、神経ペプチド [neuropeptide Y (NPY)、agouti-related peptide (AgRP)、 α -melanocyte stimulating hormone (α -MSH) の前駆体である proopiomelanocortin (POMC)] の mRNA 発現量を PCR 法にて測定した。

4. 研究成果

(1) 視床下部のドパミン受容体によるエネルギー調節

視床下部外側野のドパミン受容体の摂食調節における役割については、16 時間絶食させた後の再摂餌量に対して、両側の視床下部外側野のドパミン D₁ 受容体またはドパミン D₂ 受容体を刺激することにより摂餌量が減少することを明らかにしている (Biochem Biophys Res Commun 519, 547-552, 2019)。一方、非絶食下でドパミン D₁ 受容体アンタゴニストの SCH 23390 またはドパミン D₂ 受容体アンタゴニストの l-sulpiride を両側の視床下部外側野に投与しても摂餌量の増加は認められなかった。これらより、視床下部のドパミン D₁ 受容体およびドパミン D₂ 受容体の刺激により摂食行動は抑制されるものの、その拮抗により摂食行動は促進しないことが示唆された。

血糖調節に関しては、これまでにドパミン D₂ 受容体アゴニストまたはアンタゴニストを脳室内に投与した場合には血糖値が上昇するものの、ドパミン D₁ 受容体アゴニストまたはアンタゴニストを脳室内投与しても血糖値は変化しないことを明らかにしており (Sci Rep 10, 22347, 2020)、中枢のドパミン D₂ 受容体のみが血糖調節に関わることが示唆される。そこで本研究では、視床下部外側野のドパミン D₂ 受容体が血糖調節に関与するか検討した。両側の視床下部外側野にドパミン D₂ 受容体アゴニストの quinpirole を投与したところ血糖値は上昇した。一方、l-sulpiride を投与した場合には血糖値は変化しなかった。さらに、quinpirole による血糖上昇作用は l-sulpiride により抑制された。この結果より、視床下部外側野のドパミン D₂ 受容体の刺激により血糖値が上昇することが明らかになった。

(2) 側坐核のドパミン受容体によるエネルギー調節

摂食調節における側坐核のドパミン D₂ 受容体の役割について検討した結果、両側の側坐核に quinpirole または l-sulpiride を投与しても非絶食下の摂餌量ならびに絶食後の再摂餌量は影響を受けなかった。これまでに、側坐核のドパミン D₂ 受容体は食の嗜好性に関与することが報告されていることから、本研究の結果と考えあわせると、側坐核のドパミン D₂ 受容体は食の嗜好性には関与するものの、通常飼料に対する摂食調節には関与しないことが示唆された。

一方、血糖調節に関しては、両側の側坐核に quinpirole を投与することにより血糖値は上昇したが、l-sulpiride の投与では血糖値は変化しなかった。さらに、quinpirole による血糖上昇作用は l-sulpiride により抑制された。この結果から、側坐核のドパミン D₂ 受容体の刺激により血糖値が上昇することが明らかになった。

(3) 肥満モデルおよび糖尿病モデルにおけるドパミン受容体によるエネルギー調節の変化

インスリン抵抗性および高血糖を示す DIO マウスおよび 1 型糖尿病モデルの STZ 誘発糖尿病マウスを用いて、摂食調節や血糖調節について検討した。

まず、STZ 誘発糖尿病マウスの摂食行動について検討した結果、摂食量の増加が認められた。また、この動物の視床下部において、摂食促進作用を示す NPY および AgRP の mRNA 発現量が増加し、摂食抑制作用を示す α -MSH の前駆体である POMC の mRNA 発現量は低下した。加えて、1 型糖尿病動物の視床下部ではドパミン D₂ 受容体 mRNA 発現量が低下した。この結果より、1 型糖尿病では視床下部のペプチド神経の活性が変化することで摂食行動が促進することが示唆された。また、視床下部のドパミン D₂ 受容体が減少することで摂食行動が促進する可能性が考えられた。

一方、DIO マウスでは、摂食量に大きな変化は認められなかった。また、DIO マウスの視床下部では、NPY および AgRP mRNA 発現量は減少し、POMC mRNA 発現量は増加した。さらに、DIO マウスの視床下部ではドパミン D₂ 受容体の mRNA 発現量に変化は認められなかった。この結果から DIO マウスでは STZ 誘発糖尿病マウスとは異なり、摂食行動の変化や視床下部のドパミン D₂ 受容体の発現変化はおこらないことが示唆された。

続いて、ドパミン D₂ 受容体による血糖調節が STZ 誘発糖尿病マウスで変化するか検討した。Quinpirole または l-sulpiride の脳室内投与による血糖上昇作用は、STZ 誘発糖尿病マウスでは認められなかった。一方、DIO マウスにおいては、quinpirole または l-sulpiride を脳室内投与することにより、対照マウスと同程度の血糖上昇作用が認められた。以上の結果より、1 型糖尿病モデルでは視床下部のドパミン D₂ 受容体が減少することで、ドパミン D₂ 受容体によるエネルギー調節機構が減弱しているものの、肥満モデルではそのような変化がおこらないことが示唆された。

以上の研究の結果より、中枢のドパミン D₂ 受容体は摂食調節ならびに血糖調節に関与することが明らかとなった。また、視床下部外側野のドパミン D₁ 受容体およびドパミン D₂ 受容体は摂食行動を抑制的に調節することが明らかになった。一方、側坐核のドパミン D₂ 受容体は通常飼料に対する摂食行動には関与しないことが示唆された。血糖調節に対しては、視床下部外側野および側坐核のドパミン D₂ 受容体はいずれもその刺激により血糖値を上昇させる作用を有することが明らかになった。さらに、1 型糖尿病モデルでは視床下部のドパミン D₂ 受容体が減少することで、その摂食調節や血糖調節の作用が減弱する可能性が示された。一方、肥満モデルではそのような変化はおこらないことも明らかになった。

これまで、血糖値は末梢臓器由来のホルモンや肝臓での糖代謝ならびに糖産生、骨格筋における糖利用などにより調節されると考えられてきたが、本研究により中枢神経も血糖調節に重要な役割を果たすことが示された。昨今、肥満人口や糖尿病人口は世界的に増加していることから、本研究の発展により、肥満対策としての摂食調節、糖尿病対策としての血糖調節の機序の解明に繋がり、あらたな予防・治療戦略を提案できるものと期待する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 池田弘子
2. 発表標題 中枢のドーパミン受容体による血糖調節機構
3. 学会等名 161) 第43回日本生物学的精神医学会・第51回日本神経精神薬理学会合同年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 池田弘子
2. 発表標題 Regulation of dopamine in the central nervous system on energy homeostasis
3. 学会等名 第46回 日本神経科学大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------