

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 23 日現在

機関番号：37111
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2010 年～2012 年
 課題番号：22500685
 研究課題名（和文）肥満の脂肪食嗜好形成と心理ストレスによる過食・肥満促進における脳内報酬系の影響
 研究課題名（英文）Functional change in brain reward system is associated with fat preference and hyperphagia in diet-induced obesity
 研究代表者 小山 進（KOYAMA SUSUMU）
 福岡大学・薬学部・准教授
 研究者番号：60461505

研究成果の概要（和文）：高脂肪食負荷肥満マウスにおいては、(1) 脂肪食への嗜好性が有意に高まり、(2) 脳内報酬系中枢における GABA 神経細胞の自発活動は有意に低下し、(3) 同中枢のドーパミン神経の D2 自己受容体機能低下がみられた。肥満における高脂肪食嗜好性は、脳内報酬系ドーパミン機能の亢進と関連していると推測される。

研究成果の概要（英文）：Diet-induced obese mice exhibit higher preference for fat in a diet. This behavior change in mice is associated with decrease in the excitation of GABA neurons and decrease in D2 receptor-mediated inhibition of dopamine neurons in the reward-related brain area. We suggest that the acceleration of dopaminergic function in the brain reward system contributes to high fat preference in diet-induced obesity.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2011 年度	500,000	150,000	650,000
2012 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康スポーツ科学・応用健康科学

キーワード：肥満、高脂肪食、食行動、脳内報酬系、GABA、ドーパミン

1. 研究開始当初の背景

脳内報酬系を介した食にまつわる快楽 (hedonism) が肥満における食行動に影響するとの報告が近年相次いだ。

- ・過食・肥満におけるドーパミンの関与 (*Trends Neurosci* 30: 375-381, 2007; *Nature Gen* 25: 102-104, 2005)
- ・高脂肪食負荷肥満マウスの脳内報酬系機能変化 (*Pharmacol Biochem Behav* 53: 221-226, 1996; *Brain Res* 1268: 181-189, 2000)

<研究動機>

(1) 肥満者の減量指導の経験

空腹-満腹感にもとづかない代理摂食を約 50%の例で認めた (小山, 他. *九州地区大学保健管理研究協議会報告書* 38: 80-82, 2009; 小山, 他. *糖尿病* 52: S138, 2009)。こららの知見から、視床下部におけるエネルギー恒常性調節機序よりも、食行動の報酬的側面の関与を推測させた。

(2) 脳内における薬物依存形成機序

脳内報酬系中枢のドーパミン神経機能異常による (Koyama & Appel. *J Neurophysiol* 96: 535-544, 2006; Koyama & Appel. *J*

Neurophysiol 96: 545-554, 2006; Koyama et al. *J Neurophysiol* 97: 1977-1985, 2007)。

臨床と基礎研究から、以下の仮説を立てた。「肥満者においては、脳内報酬系を介して高脂肪食依存が形成されるために減量が困難なのではないか」

2. 研究の目的

肥満における脂肪食嗜好形成時の脳内報酬系神経機能異常を行動学と中枢電気生理学を総合して解明すること

3. 研究の方法

(1) 肥満マウスの作製

- ①マウス（雄性）を一般食（脂肪 13%）あるいは高脂肪食（脂肪 45%）により飼育した。
- ②体重の増加、内臓脂肪を定量化した。

(2) 脂肪食への嗜好性の評価

- ①マウスを 1 匹ずつ小ケージに入れた。
- ②低脂肪食（10%）あるいは高脂肪食（60%）を自由に摂取できるようにした。
- ③1 週間観察し、その間の摂餌量、三大栄養素摂取率、体重変化などを解析した。

(3) 脳内報酬系神経機能の解析

- ①マウスから、脳内報酬系中枢である中脳腹側被蓋野（ventral tegmental area: VTA）を含む脳スライス標本を作製した。
- ②VTA ドパミン神経あるいは GABA 神経機能を、電位固定式細胞外記録（保持電位：0 mV）を用いて電気生理学的に解析した。

4. 研究成果

(1) 高脂肪食（脂肪 45%）により、肥満マウスを作製できた。肥満マウスでは、有意な内臓脂肪重量の増加を確認した (Table. 1)。

Table 1. Visceral organ weight of lean and obese mice

	Lean mice (n=14)	Obese mice (n=9)
Liver (g)	2.09 ± 0.06	1.87 ± 0.11
Kidneys (g)	0.65 ± 0.02	0.66 ± 0.02
Adipose tissue (g)	1.87 ± 0.09	3.78 ± 0.45 ^{***}
Epididymal	0.78 ± 0.05	1.92 ± 0.26 ^{***}
Perinephric	0.36 ± 0.03	0.83 ± 0.12 ^{**}
Mesenteric	0.73 ± 0.04	1.03 ± 0.10 [*]

Visceral organs were taken from 9-10 week-old mice. Values are ± SEM. N.S., not significantly different. ^{*}*P* < 0.01, ^{**}*P* < 0.001, ^{***}*P* < 0.0001.

(2) 高脂肪食負荷肥満マウスにおいては、脂肪食への嗜好性が有意に高まっていた (Table. 2)。

Table 2. Two-choice fat preference test

	Lean mice (n=5)	Obese mice (n=5)
Total intake (kcal)	144.9 ± 2.7	150.9 ± 6.0
% energy		
10% fat diet	8.9 ± 1.9	3.1 ± 0.8 [*]
60% fat diet	91.1 ± 1.9	96.9 ± 0.8 [*]
Caloric efficiency (kcal/g)	74.6 ± 17.6	81.5 ± 29.1

Values are ± SEM. ^{*}*P* < 0.05.

(3) 肥満マウスでは、VTA GABA 神経の自発活動は有意に低下していた。従って、VTA での抑制性神経機能が肥満マウスでは低下していることが示唆された (Table. 3)。

Table 3. Body weight and properties of VTA GABA neurons

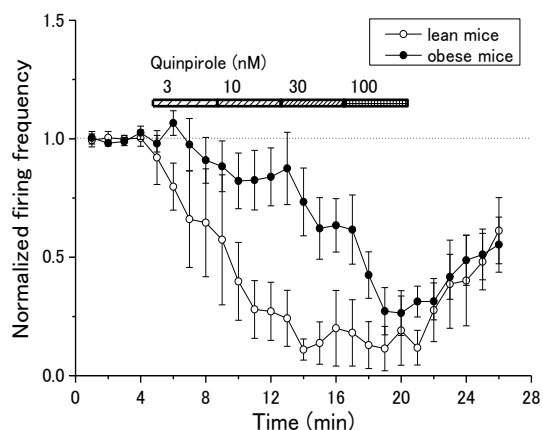
	Lean mice	Obese mice
BW (g)	40.3±0.6 (n=21)	46.4±1.2 ^{**} (n=15)
FF (Hz)	13.1±1.6 (n=23)	7.0±0.6 [*] (n=13)
CV of FF	0.21±0.03 (n=23)	0.24±0.04 (n=13)
AP width (ms)	1.5±0.1 (n=23)	1.3±0.1 (n=13)

Values are ± SEM. BW, body weight; FF, firing frequency; AP, action potential; CV, coefficient of variation. ^{*}*P* < 0.01, ^{**}*P* < 0.001.

(4) 肥満マウスでは、ドパミン神経の D2 自己受容体機能低下がみられた (Fig. 1)。

ドパミン D2 受容体作動薬である quinpirole を投与すると、肥満マウスおよび非肥満マウスで、濃度依存的に VTA ドパミン神経の自発活動の抑制がみられた。しかし、その抑制率は、肥満マウスで有意に減少していた (*P* < 0.001, two-way ANOVA, 非肥満マウス: n=4, 肥満マウス: n=6)。従って、肥満マウスでは、ドパミン自己抑制機能が低下していることが示唆された。

Fig.1



本研究結果をまとめると、以下の病態仮説を導くことができる。

「肥満における高脂肪食嗜好性は、脳内報酬系ドパミン機能の亢進と関連している。」

本研究結果の位置づけとインパクト

- (1) 行動学と電気生理学を融合した斬新なアプローチにより、肥満における食行動異常の脳内機序を解明した。
- (2) 肥満の食行動異常に関して、脳内ドパミン報酬系投射核である線条体や側座核に関する研究は多い。本研究は、脳内ドパミン報酬系起始核である VTA を対象にして、これまでの知見を深めた。
- (3) 本研究結果からの推測：ドパミン受容体作動薬などが、代理摂食などの食行動異常を是正し、肥満治療に有用であるかもしれない。

今後の展望

以下の2点を、今後解明してゆく必要がある。

- (1) VTA ドパミン神経：高脂肪食誘発肥満において、D2 自己受容体機能の低下が生じる細胞内機序、特に、摂食関連ホルモンと VTA ドパミン神経の相互作用
- (2) VTA GABA 神経：GABA 神経の自発活動を制御している電位依存性イオンチャンネルの中で、肥満により機能変化するものの同定

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2件)

- (1) Zhang R, Sun L, Hayashi Y, Liu X, Koyama S, Wu Z, Nakanishi H. Acute p38-mediated inhibition of NMDA-induced outward currents in

hippocampal CA1 neurons by interleukin-1 β . *Neurobiol Dis* 38: 68-77, 2010 査読有.

- (2) Murata Y, Kobayashi D, Imuta N, Haraguchi K, Teiri I, Nishimura R, Koyama S, Mine K. Effects of the serotonin 1A, 2A, 2C, 3A, and 3B and serotonin transporter gene polymorphisms on the occurrence of paroxetine discontinuation syndrome. *J Clin Psychopharmacol* 30: 11-17, 2010 査読有.

[学会発表] (計11件)

- (1) Koyama S, Brodie MS, Appel SB. Action potential trains enhance spontaneous miniature hyperpolarizations in neonatal ventral tegmental area dopamine neurons. 第86回日本薬理学会年会 2013年3月22日 福岡.
- (2) Uchida T, Deshimaru M, Yanagawa Y, Koyama S, Hirose S. KCNQ mutation facilitates spontaneous activity of hippocampal GABAergic neuron in neonate mice. 第86回日本薬理学会年会 2013年3月22日 福岡.
- (3) 小山 進, 花井美佐江, 村田雄介, 浅野 喬, 美根和典. 正常耐糖能を示す青年期肥満者における潜在的糖代謝リスクとその回避. 第50回日本糖尿病学会九州地方会 2012年10月19日 久留米.
- (4) 小山 進, 大倉野将広, 寺井大輝, 河原田茉莉, 佐澤卓哉, 宮崎彩乃, 森 征慶, 金丸尚平, 村田雄介, 美根和典. 高脂肪食嗜好を示す肥満マウス脳内報酬系ドパミン神経における選択的D2自己受容体機能低下. 第14回ブレインサイエンス研究会 2012年6月 霧島.
- (5) 小山 進, 花井美佐江, 荒川秀子, 村田雄介, 浅野 喬, 美根和典. 青年期肥満者の早期耐糖能障害予測におけるアディポネクチンの有用性. 第55回日本糖尿病学会年次学術集会 2012年5月 横浜.
- (6) Koyama S. Decreased activity of GABA neurons in the central reward system of high-fat diet-induced obese mice. 第85回日本薬理学会年会 2012年3月 京都.
- (7) 森 征慶, 小山 進, 寺井大輝, 河原田茉莉, 大倉野将広, 村田雄介, 杉本裕子, 美根和典. 高脂肪食負荷肥満マウスにおいては VTA ドパミン自己受容体機能が低下する. 第39回薬物活性シンポジウム 2011年11月 福岡.
- (8) 小山 進, 寺井大輝, 河原田茉莉, 佐澤卓哉, 宮崎彩乃, 森 征慶, 金丸尚平, 村田雄介, 美根和典. 高脂肪食負荷肥満

マウスにおける脳内食報酬系ドパミンD2自己受容体機能低下の細胞内機序. 第13回ブレインサイエンス研究会 2011年5月 熊本.

- (9) Mori M, Koyama S, Kanamaru S, Miyazaki A, Sazawa T, Murata Y, Mine K. Modulation of dopaminergic-rewarding neuronal activity through a dopamine receptor in high-fat diet-induced obese mice. 第63回日本薬理学会 西南部会 2010年11月 鹿児島.
- (10) Kanamaru S, Koyama S, Mori M, Sazawa T, Miyazaki A, Murata Y, Sugimoto H, Mine K. Long-term intake of inherently preferable high-fat diet induces obesity with enhancement of fat preference in mice. 第63回日本薬理学会 西南部会 2010年11月 鹿児島.
- (11) Hashiguchi S, Murata Y, Hara C, Abe E, Tanaka S, Maiguma C, Sugimoto H, Koyama S, Mine K. The effect of psychological stress on grooming behavior in mice. 第63回日本薬理学会 西南部会 2010年11月 鹿児島.

[図書] (計0件)
なし

[産業財産権] (計0件)
○出願状況 (計0件)
なし
○取得状況 (計0件)
なし

[その他]
ホームページ等
<http://www.pha.fukuoka-u.ac.jp/user/shin/web/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小山 進 (KOYAMA SUSUMU)
福岡大学・薬学部・准教授
研究者番号：60461505

(2) 研究分担者

美根 和典 (MINE KAZUNORI)
福岡大学・薬学部・教授
研究者番号：60150421

(3) 連携研究者

なし