

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 24 年 5 月 28 日現在

機関番号：32202

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010 ～ 2011

課題番号：22790887

研究課題名（和文）ネスファチン-オキシトシン-POMC系による摂食・代謝調節機構の解明

研究課題名（英文）The study of feeding and metabolism regulated by nesfatin-1-oxytocin-POMC system

研究代表者

前島 裕子(MAEJIMA YUKO)

自治医科大学・医学部・助教

研究者番号：40438669

研究成果の概要（和文）：オキシトシンが延髄孤束核プロオピオメラノコルチン(POMC)ニューロンを活性化することはすでに報告したが、弓状核 POMC ニューロンへの作用は未検討であった。本研究ではオキシトシンは生理的摂食抑制因子であり、弓状核 POMC ニューロン活性化因子であることを明らかにし、オキシトシンの ARC POMC ニューロンの活性化作用はレプチン抵抗性動物でも正常であることが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：The activation of proopiomelanocortin neurons in Nucleus tractus solitarius (NTS) by oxytocin has been reported. However, the effect of oxytocin on POMC neurons in arcuate nucleus (ARC) has not been examined yet. This study clarified that oxytocin is physiological anorectic peptides, and activates ARC POMC neurons, as well as NTS POMC neurons. It is also suggested that oxytocin could activated ARC POMC neurons even in the leptin resistant animal model.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

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・オキシトシン・弓状核・プロオピオメラノコルチン

1. 研究開始当初の背景

申請者は室傍核(PVN)オキシトシン(Oxt)ニューロンの上流因子として Nesfatin-1 を同定し、その効果系として延髄孤束核(NTS)プロオピオメラノコルチン(POMC)を同定した。POMC は摂食・代謝調節に中心的役割を

担い、視床下部弓状核(ARC)と延髄孤束核(NTS)に限局するが、Oxt ニューロンの摂食・代謝制御の効果系として、ARC POMC ニューロンの関与の可能性も残されていた。オキシトシンは古くから、分娩、射乳などの生理作用を持つホルモンとして知られてき

たが、近年の研究で、摂食・エネルギー代謝調節作用の重要性が明らかになりつつある。

2. 研究の目的

本研究は、Oxt の Nesfatin-1-Oxt を上流制御系とする ARC vs. NTS の POMC ニューロンの摂食調節および代謝における役割の解明を目的とし、Oxt の摂食調節作用の生理的役割、および ARC POMC ニューロンへの作用機序を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) Wistar Rat を用いて、中枢 Oxt が生理的な摂食調節ペプチドかを調べるために、絶食後の再摂食前にオキシトシン受容体阻害剤を脳室内投与し、摂食量を測定した。

(2) オキシトシンは ARC POMC ニューロンを活性化するかを調べるために Oxt 脳室内投与後の c-FOS および ARC POMC の二重免疫染色を行った。

(3) Oxt が ARC POMC ニューロンを活性化するかを明らかにするために ARGUS-50 システムおよび蛍光指示薬 Fura-2 および、単離した ARC POMC ニューロンを使用し Oxt 作用下で細胞内 Ca^{2+} イメージングを行った。細胞の単離にはパパイインおよび物的粉碎により単離した。

(4) ARC POMC ニューロンへの Oxt 作用は、レプチン抵抗性動物でも有効かを調べるために、単離した Zucker Fatty rat の ARC POMC ニューロンへの Oxt 作用を細胞内 Ca^{2+} イメージングにて調べた。

(5) ARC POMC ニューロンへのオキシトシンニ

ューロン軸索投射があるかを、蛍光二重免疫染色にて組織学的に解析した。

4. 研究成果

16 時間絶食させたラットに再摂食させる際にあらかじめオキシトシン受容体阻害剤 (H4928) を脳室内投与すると、再摂食開始 2 時間以降の摂食量が有意に増加した (図 1)。この結果から内因性の Oxt が摂食の停止に関与していることが示唆された。

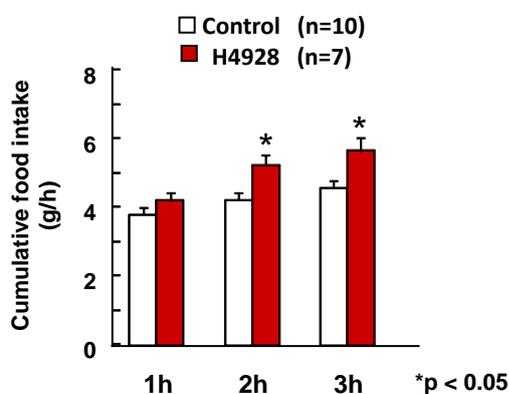


図1. オキシトシン受容体阻害剤(H4928)絶食後の再摂食量への影響

Oxt を脳室内投与すると、弓状核に神経細胞の活性化マーカーである c-Fos の発現が増加した。さらに ARC POMC ニューロンの約 15% に c-Fos の発現が見られた。ARC POMC ニュー

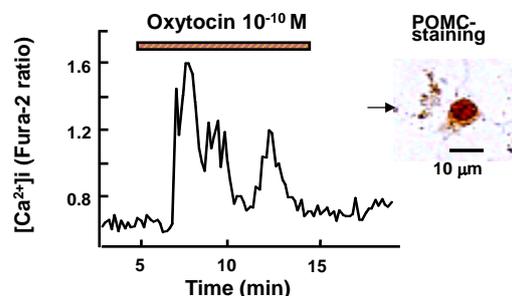


図2. オキシトシンはARC POMCニューロンの細胞内 Ca^{2+} を増加させる

ロンの Oxt による活性化が直接作用かを調べるために、単離した ARC POMC ニューロンに

Oxt を作用させると細胞内 Ca^{2+} の増加が見られたことから (図1)、Oxt は ARC POMC ニューロンを直接活性化することが明らかになった (図2)。

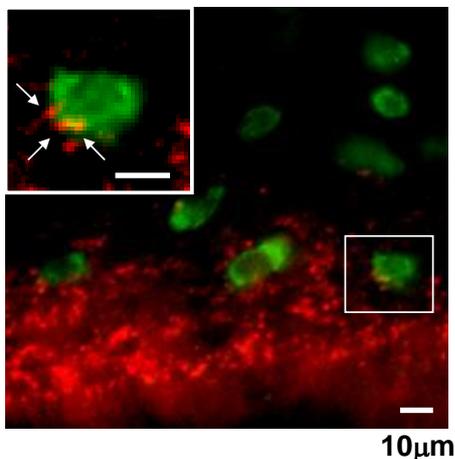


図3. オキシトシンニューロン軸索はARC POMCニューロンに投射する

解剖学的な Oxt ニューロン軸索の投射が ARC POMC ニューロンに存在するかを Oxt と POMC の二重免疫染色を行ったところ、Oxt ニューロン軸索末端が ARC POMC ニューロンに投射していることが明らかになった (図3)。また、レプチン抵抗性のモデル動物である Zucker Fatty Rat から単離した POMC ニューロンはレプチンに対する反応は対照動物である Zucker Lean Rat と比較して有意に減少しているにも関わらず、Oxt に対する反応性は Lean Rat と同等であった。Oxt の制御因子として Nesfatin-1 が関与した場合には NTS POMC ニューロン系が活性化することは明らかになっていたが、本研究により Oxt-ARC POMC 経路も存在し、Oxt-ARC 経路は Nesfatin-1 以外を上流因子としたときに稼働する経路であることが推測され、Oxt-POMC 経路は、上流因子によって使い分けされている可能性が考えられた (図4)。

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 Maejima Y., Kohno D., Iwasaki Y., Yada T. Insulin suppresses ghrelin-induced calcium signaling in neuropeptide Y of the hypothalamic arcuate nucleus. *Aging (Albany NY)*. 2011. 3(11):1092-1097.
- ② Maejima Y., Iwasaki Y., Yamahara Y., Kodaira M., Sedbazar U., Yada T. Peripheral oxytocin treatment ameliorates obesity by reducing food intake and visceral fat mass. *Aging (Albany NY)* 2011. 3(12):1169-1177.

[学会発表] (計4件)

- ① 前島 裕子. オキシトシンの摂食制御経路に弓状核 POMC ニューロンが関与する. 第 32 回日本肥満学会. 2011, 9, 23. 兵庫県・淡路島.
- ② 前島 裕子. 視床下部室傍核 Nesfatin-1- Oxytocin による摂食調節と病態的意義. 第 32 回日本肥満学会シンポジウム. 2011, 9, 23. 兵庫県・淡路島.
- ③ 前島 裕子. ネスファチン-1 はオキシトシン-メラノコルチン系を介して摂食抑制する. 第 31 回日本肥満学会 シンポジウム. 2010, 10, 2. 群馬県・前橋市.

- ④ Maejima Y. Nesfatin-1-regulated oxytocinergic signaling in the paraventricular nucleus causes anorexia via melanocortin pathway. 46th annual meeting of European Association for the Study of Diabetes. 2010, 9, 24. Stockholm / Sweden

〔図書〕(計4件)

- ① 前島 裕子. 北隆館/メディカルニューロサイエンス社. Medical Science Digest: Nesfatin-1による食欲と関連機能の制御. 2011. 24-26.
- ② 前島 裕子. 日本薬理学会. 日本薬理学会誌 (*Folia Pharmacol. Jpn*) : Nesfatin-1の摂食抑制神経経路及びストレス、循環、生殖における役割. 2011. 162-165.
- ③ 前島 裕子. 肥満学会. 肥満研究: 食欲制御における視床下部・脳幹の役割. 2010. 125-130.
- ④ 前島 裕子. フジメディカル出版. アディポサイエンス: 視床下部・脳幹による摂食調節機構. 2010. 215-223.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計1件)

名称: 肥満・メタボリックシンドローム治療薬、及びその動物の治療方法

発明者: 矢田 俊彦(代表) 前島 裕子 岩

崎 有作

権利者: 自治医科大学

種類: 特願

番号: 2011-271652

出願年月日: 2012年12月12日

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

前島 裕子 (MAEJIMA YUKO)

自治医科大学・医学部・助教

研究者番号: 40438669