

平成 29 年 5 月 12 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461366

研究課題名(和文) 室傍核オキシトシンニューロンのKATPチャネルによる摂食調節の解明と治療応用

研究課題名(英文) Contribution of KATP channel in PVN oxytocin neurons for food intake regulation.

研究代表者

下村 健寿 (Shimomura, Kenju)

福島県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：90636226

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：肥満の増加は社会問題になっています。この問題の解決には脳における摂食制御の解明が必要になります。本研究では脳において食事によって上昇するグルコースによってニューロンの活性を制御することが考えられるKATPチャネルに注目しました。脳のKATPチャネルは脳の摂食制御猟奇である室傍核のオキシトシンニューロンを間接的に制御していることが明らかとなりました。今後、この成果をもとにKATPチャネルを標的とした抗肥満治療への応用も視野に入れることができます。

研究成果の概要(英文)：Increase of obesity population is becoming a social problem. In order to solve this problem, elucidation of food intake regulation mechanism in brain is essential. In this study we have focused on KATP channel which is known to be regulated by glucose and influence the neuron activity. We found that KATP channel is indirectly regulating the activity of oxytocin neuron in paraventricular nucleus (PVN) in hypothalamus. Because PVN oxytocin neurons are important for food intake regulation, KATP channel may be a future target for the treatment of obesity.

研究分野：電気生理学

キーワード：オキシトシン KATPチャネル

1. 研究開始当初の背景

肥満患者の増加は糖尿病や心血管イベントを誘発し、健康を害する。しかし、脳における摂食制御機序は不明な点が多い。肥満の改善は生活習慣病の予防にもつながることから、その治療法の発見は急務であると考えられる。そのためには脳における摂食制御機序を明らかにする必要があると考えられる。

一方、KATP チャンネルは膵臓の細胞においてグルコースに反応してインスリンを分泌する。KATP チャンネルは脳にも発現しており、近年、KATP チャンネルの変異によって糖尿病だけでなく重篤な中枢神経症状を呈すること (DEND 症候群) が報告された。DEND 症候群の患者では摂食パターンに異変が生じることも明らかとなっている。しかし脳における KATP チャンネルの生理的な意義についてはほとんどわかっていない。したがって脳の摂食制御機序のみならず脳 KATP チャンネルの果たしている役割の解明も重要であると考えられる。

2. 研究の目的

近年、脳の摂食制御領域である視床下部弓状核において加齢に伴い KATP チャンネルの発現が亢進することが報告された。この弓状核の KATP チャンネル発現の変化は中年太りの原因となることも考えられた。これにより KATP チャンネルが脳の摂食制御に与える影響が大きいことが示唆された。そこで本研究ではもうひとつの脳の摂食制御領域である室傍核のオキシトシンニューロンにおいてその活性を制御する因子として、グルコース濃度に応じて開閉し細胞膜の活動を制御する KATP チャンネルがいかなる活動制御を行っているか、その貢献について解析することを目的とした。本研究により摂食制御メカニズムを解明することで新しい肥満治療の一助となる

ことを目指した。

3. 研究の方法

動物：

正常 Wistar Rat および Oxt-mRFP ラットを使用した。

KATP チャンネルが室傍核ニューロンの活性に与える影響：

上記ラットの室傍核を含む脳スライス (厚さ 250-300 μm) を作成し室傍核ニューロンさらにオキシトシンニューロンに対しパッチクランプ法 (HEKA, EPC-800) を用いて測定した。スライスは artificial cerebral spinal fluid (aCSF) に 95% 酸素 5% 二酸化炭素を与えて灌流する条件の中で行った (pH は 7.4 であることは確認している)。測定方法は活動電位に関しては current clamp 法により測定を行った。また興奮性ならびに抑制性のシナプス入力に関しては voltage clamp にて膜電位を -60mV に固定し、興奮性シナプス後電流 (EPSC) ならびに抑制性シナプス後電流 (IPSC) の測定を行った。

神経投射解析：

室傍核オキシトシンニューロンの周囲にある神経終末に存在している物質を同定するために各種神経ペプチドの抗体を用いて染色を行った。

4. 研究成果

オキシトシンニューロンをターゲットとして red fluorescent protein 1 を発現しているラット (Oxt-mRFP ラット) の脳スライスを用いて、脳室傍核におけるオキシトシンニューロンを識別し、パッチクランプ法の current clamp によって電気生理学的検討を行った。

この際、活動電位の発生していないニューロン (膜電位 -60mV 前後) に対して KATP チャンネル阻害剤であるグリベンクラマイ

ド (100 μ M) の添加を行ったところ、添加から 15 分以上の時間が経過すると膜電位の上昇を確認し、さらに活動電位の誘発が起きることが確認できた。

添加から 15 分という長い時間が経過してからその効果発揮されるという点において、直接的にグリベンクラマイドが室傍核オキシトシンニューロンの KATP チャンネルに対して作用を発揮していることは考えにくいと思われた。室傍核オキシトシンニューロンには KATP チャンネルそのものは発現していることから、何等かの機序によってこれらのニューロンの KATP チャンネルは通常の状態においてはもともと閉鎖している可能性が考えられた。

そこで間接的に KATP チャンネルが室傍核オキシトシンニューロンの活性に関与していることが推測された。この場合、室傍核オキシトシンニューロンに投射している他の脳部位に存在するニューロンの細胞膜上に存在する KATP チャンネルの閉鎖がグリベンクラマイドによって促され、結果的に室傍核オキシトシンニューロンの活性を制御していることが考えられた。

そこでオキシトシンニューロンの周囲に存在する神経終末に存在している神経ペプチドを検索した結果、オキシトシンニューロンの周囲の神経ターミナルにオレキシンが存在していることを確認した。

オレキシンニューロンが存在している Lateral hypothalamic area には KATP チャンネルが多数存在していることからこれらの KATP チャンネルが関与している可能性が考えられた。さらにオレキシンを室傍核オキシトシンニューロンに添加するとオキシトシンニューロンの活動が減弱することを確認した。その機序としてはオキシトシンニューロンに対する EPSC の頻度の低下、すなわち興奮性入力への抑制が確認された。

脳においてオキシトシンは日内変動に基づいて分泌されていることが報告されている。オレキシンは覚醒-睡眠リズムの形成に深く関与していることから、Lateral hypothalamic area のオレキシンニューロンにおいて KATP チャンネルがその活動に関与しており、間接的に室傍核オキシトシンニューロンの活性を制御していることが示唆された。

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)

1. Maejima Y, Takahashi S, Takasu K, Takenoshita S, Ueta Y, Shimomura K. Orexin action on oxytocin neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *NeuroReport* (accepted) 2017
2. Shimomura K, Maejima Y. Mutation in K_{ATP} channel and neonatal diabetes. *Intern Med* (accepted). 2017
3. Brereton M, Rohm M, Shimomura K, Holland C, Tornovsky-Babeay S, Dadon D, Iberl M, Chibalina M, Lee S, Glaser B, Dor Y, Rorsman P, Clark A, Ashcroft F. Hyperglycaemia induces metabolic dysfunction and glycogen accumulation in pancreatic β -cells *Nature Communications* (accepted) 2016
4. Tokita Y, Maejima Y, Shimomura K, Takenoshita S, Ishiyama N, Akuzawa M, Shimomura Y, Nakajima K. Non-alcoholic fatty liver disease is a risk factor for type 2 diabetes in middle-aged Japanese men and women. *Intern Med* (accepted) 2016
5. Hugill A, Shimomura K, Cox RD. Islet insulin secretion measurements in

- mouse. *Curr Protoc Mouse Biol* 6, 256-271, 2016
6. Maejima Y, Kumamoto K, Takenoshita S, Shimomura K. Projection from a single NUCB2/nesfatin-1 neuron in the paraventricular nucleus to different brain regions involved in feeding. *Brain Struct Funct* 221, 4723-4731, 2016.
 7. Sakamaki K, Maejima Y, Tokita Y, Masamura Y, Kumamoto K, Akuzawa M, Nagano N, Nakajima K, Shimomura K, Takenoshita S, Shimomura Y. Impact of visceral fat area measured by dual impedance method on diagnostic components of metabolic diseases in a middle-aged Japanese population. *Internal Med* 55, 1691-1696, 2016 .
 8. Santoso P, Maejima Y, Kumamoto K, Takenoshita S, Shimomura K. Central action of ELABELA reduces food intake and activates arginine vasopressin and corticotropin-releasing hormone neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus. *NeuroReport* 26, 820-826, 2015
 9. Arredouani A, Ruas M, Collins SC, Parkesh R, Clough F, Pillinger T, Coltart G, Rietdorf K, Royle A, Johnson P, Braun M, Zhang Q, Sones W, Shimomura K, Norgan AJ, Lewis AM, Chuang KT, Tunn R, Gadea J, Teboul L, Heister PM, Tynan PW, Bellomo EA, Rutter GA, Rorsman O, Churchill GC, Parrington J, Gallione A. NAADP and endolysosomal two-pore channels modulate membrane excitability and stimulus-secretion coupling in mouse pancreatic beta cells. *J Biol Chem* 290, 21376-21392, 2015
 10. Nohara A, Maejima Y, Shimomura K, Kumamoto M, Takahashi M, Akuzawa M, Negishi M, Ishiyama N, Nagano N, Aso Y, Takenoshita S, Shimomura Y. Self-awareness of fast eating and its impact on diagnostic components of metabolic syndrome among middle-aged Japanese males and females. *Endocrine Regulations* 49, 91-96 2015
 11. Maejima Y, Hasegawa S, Horita S, Kumamoto K, Galbanovskis J, Takenoshita S, Shimomura K. Water intake disorder in DEND syndrome afflicted patient with R50P mutation. *Endocr J*. 62. 387-392, 2015
 12. Maejima Y, Rita RS, Santoso P, Aoyama M, Hiraoka Y, Nishimori K, Gantula D, Shimomura K, Yada T. Nasal oxytocin administration reduces food intake without affecting locomotor activity and glycemia with c-Fos induction in limited brain areas. *Neuroendocrinology* 101, 35-44, 2015
- 〔雑誌論文〕(計 12 件)
- 〔学会発表〕(計 1 件)
- 〔図書〕(計 0 件)
- 〔産業財産権〕
- 出願状況 (計 0 件)
- 名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：

番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

下村健寿 (Shimomura Kenju)
福島県立医科大学 医学部
医療エレクトロニクス研究講座
薬理学講座 主任教授
研究者番号：90636226

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

前島裕子 (Maejima Yuko)
福島県立医科大学 医学部
医療エレクトロニクス研究講座
薬理学講座 准教授
研究者番号： 40438669

(4) 研究協力者

()