

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 6 月 1 日現在

機関番号：63905

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21390067

研究課題名（和文）視床下部 AMP キナーゼによる摂食・代謝調節作用と肥満動物における異常

研究課題名（英文）Role of hypothalamic AMP kinase in food intake and metabolic regulation in lean and obese animals

研究代表者

箕越 靖彦（MINOKOSHI YASUHIKO）

生理学研究所・発達生理学研究室・教授

研究者番号：10200099

研究成果の概要（和文）：AMP キナーゼ(AMPK)は、“metabolic sensor”の一つとして知られている。本研究において報告者は、室傍核 AMPK が脂肪酸酸化を介して炭水化物食と高脂肪食の食餌選択の調節に関与することを見出した。

研究成果の概要（英文）：AMP kinase (AMPK) has been known to be a “metabolic sensor”. Here, we found that AMPK in the paraventricular hypothalamus regulates food selection behavior for carbohydrate and fat diets via fatty acid oxidation in the nucleus.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	6,900,000	2,070,000	8,970,000
2010年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
2011年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
年度			
年度			
総計	14,300,000	4,290,000	18,590,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・環境生理学（含体力医学・栄養生理学）

キーワード：生理学、栄養学、生体分子、摂食行動、肥満

1. 研究開始当初の背景

AMP キナーゼ(AMPK)は、AMP 濃度の上昇と AMPKK (calmodulin-dependent protein kinase kinase, CaMKK など)によるリン酸化によって活性化し、グルコースや脂肪酸の利用、遺伝子発現、蛋白合成を調節することから、“metabolic sensor”の一つとして知られている。報告者は、これまでに、レプチンが骨格筋 AMPK を活性化して脂肪酸酸化を促進すること (Nature 2002)、また視床下部 AMPK が摂食行動を調節することを明らかにした (Nature 2004)。発表以後、多くの研究者が同様の研究を行い、報告者の研

究成果を確認するとともに、摂食を変化させる多くの生理的条件、ホルモン、神経伝達物質が視床下部 AMPK 活性を変化させることを明らかにした。すなわち、多くの摂食促進因子は視床下部 AMPK を活性化し、摂食抑制因子は逆に活性を抑制することが明らかとなった。

報告者は、視床下部 AMPK による摂食調節機構を明らかにする目的で、摂食に重要な視床下部神経核である視床下部室傍核ニューロンにレンチウイルスを用いて活性化型 AMPK を発現させた。その結果、このマウスは炭水化物食によって過食となり肥満する

ことを見出した。ところが、驚いたことに、高脂肪食では通常のマウスのように過食とならず肥満しなかった。

2. 研究の目的

本研究は、これらの予備実験の結果に基づき、視床下部 AMPK が摂食行動、食餌嗜好性をどのようにして調節するのか、またその生理学的・病態生理学的意義は何か、特に、肥満動物における食餌嗜好性の変化に視床下部 AMPK がどのような調節作用を営むかを明らかにする。

3. 研究の方法

C57Bl/6J オスマウスの室傍核に、レンチウイルスを用いて活性型 AMPK を発現させる。プロモーターは神経特異的プロモーターを用いる。数ヶ月間、炭水化物食あるいは高脂肪食を自由に摂取させ、摂食量、体重の変化を測定する。食餌嗜好性は、マウスに炭水化物食と高脂肪食を同時に選択させ、1日の摂取量を食餌毎に調べる。実験後、室傍核及び他の脳部位を採取し、AMPK 活性、神経及び代謝機能に関わる遺伝子発現を調べる。

4. 研究成果

(1) 平成 21 年度

報告者は、予備実験において、マウス室傍核神経細胞に活性型 AMPK を発現させると炭水化物食への嗜好性が亢進して過食となり、肥満することを見出している（研究開始当初の背景）、このことを本実験においても確認した。また、その作用は室傍核の脂肪酸酸化が関与することを明らかにした。事実、室傍核において脂肪酸酸化が亢進しており、室傍核に脂肪酸酸化阻害剤である *etomoxir* を投与すると炭水化物嗜好性が消失した。これと同様な変化は、マウスを絶食することによっても引き起こされた。すなわち、マウスを一日絶食すると、室傍核において AMPK が活性化するとともに脂肪酸酸化が亢進した。また炭水化物食に対する嗜好性が亢進していた。室傍核に *etomoxir* を投与すると炭水化物嗜好性が消失した。このことから、絶食においても、室傍核 AMPK が脂肪酸酸化を介して食餌嗜好性を調節することが明らかとなった。

(2) 平成 22 年度

KKay肥満動物において、室傍核AMPK活性と脂肪酸酸化による食餌嗜好性調節機構に異常を来すことを見出した。KKay肥満動物を絶食しても、室傍核においてAMPK活性及び脂肪酸酸化は亢進しなかった。そのため、この肥満動物は、普通のマウスとは異なり、絶食した後の再摂食においても高脂肪食を選択的に摂取し、炭水化物食を摂取しなかった。一

方、離乳して間もない非肥満KKayマウスではこのような異常は部分的であった。

(3) 平成23年度

本年度は、KKay肥満マウスと同様の異常が、高脂肪食を長期間摂取させて肥満させたマウス（DIOマウス）においても起こるかどうかを調べた。その結果、DIOマウスにおいてもKKayマウスと同様に室傍核においてAMPK活性と脂肪酸酸化が低下しており、絶食後の再摂食において、高脂肪食を選択的に摂取した。さらに、高脂肪食で肥満したマウス、KKay肥満マウス共に、室傍核において脂肪酸酸化関連遺伝子の発現が低下していた。

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）

〔雑誌論文〕（計 15 件）

以下、すべて査読有り。

1. Uchida K, Dezaki K, Damdindorj B, Inada H, Shiuchi T, Mori Y, Yada T, Minokoshi Y, Tominaga M. Lack of TRPM2 impaired insulin secretion and glucose metabolisms in mice. *Diabetes* 2011, 60:119-126. doi: 10.2337/db10-0276

2. Matsuo E, Mochizuki A, Nakayama K, Nakamura S, Yamamoto T, Shioda S, Sakurai T, Yanagisawa M, Shiuchi T, Minokoshi Y, Inoue T. Decreased intake of sucrose solutions in orexin knockout mice. *J Mol Neurosci* 2011, 43: 217-224. doi: 10.1007/s12031-010-9475-1

3. Saito K, Lee S, Shiuchi T, Toda C, Kamijo M, Inagaki-Ohara K, Okamoto S, Minokoshi Y. An enzymatic photometric assay for 2-deoxyglucose uptake in insulin-responsive tissues and 3T3-L1 adipocytes. *Analytical Biochem* 2011, 412: 9-17. doi: 10.1016/j.ab.2011.01.022

4. Hoivik EA, Bjanesoy TE, Mai O, Shima Y, Okamoto S, Minokoshi Y, Morohashi K, Boehm U, Bakke M. DNA methylation of intronic enhancers directs tissue-specific expression of steroidogenic factor 1/adrenal 4 binding protein (SF-1/Ad4BP). *Endocrinology* 2011, 152: 2100-2112. doi: 10.1210/en.2010-1305

5. Cao Y, Nakata M, Okamoto S, Takano E, Yada T, Minokoshi Y, Hirata Y, Nakajima

K, Iskandar K, Hayashi Y, Ogawa W, Barsh GS, Hosoda H, Kangawa K, Itoh H, Noda T, Kasuga M, Nakae J. PDK1-Foxo1 in Agouti-related peptide neurons regulates energy homeostasis by modulating food intake and energy expenditure. *PLoS ONE* 2011, 6: e18324. doi: 10.1371/journal.pone.0018324

6. Tanaka M, Suganami T, Kim-Saijo M, Toda C, Tsuiji M, Ochi K, Kamei Y, Minokoshi Y, Ogawa Y. Role of central leptin signaling in the starvation-induced alteration of B cell development. *J Neurosci* 2011, 31: 8373-8380. doi: 10.1523/JNEUROSCI.6562-10.2011

7. Handa N, Takagi T, Saijo S, Kishishita S, Takaya D, Toyama M, Terada T, Shirouzu M, Suzuki A, Lee S, Yamauchi T, Okada-Iwabu M, Iwabu M, Kadowaki T, Minokoshi Y, Yokoyama S. Structural basis for compound C inhibition of the human AMP-activated protein kinase $\alpha 2$ subunit kinase domain. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 2011, 67: 480-487. doi: 10.1107/S0907444911010201

8. Kukimoto-Niino M, Yoshikawa S, Takagi T, Tomabechi Y, Terada T, Shirouzu M, Suzuki A, Lee S, Kadowaki T, Minokoshi Y, Yokoyama S. Crystal structure of the Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase kinase in complex with the inhibitor STO-609. *J Biol Chem* 2011, 286: 22570-22579, 2011. doi: 10.1074/jbc.M111.251710

9. Uchida K, Shiuchi T, Inada H, Minokoshi Y, Tominaga M. Metabolic adaptation of mice in a cool environment. *Pflügers Arch* 2010, 459: 765-774. doi: 10.1007/s00424-010-0795-3

10. Sasaki T, Kim HJ, Kobayashi M, Kitamura YI, Yokota-Hashimoto H, Shiuchi T, Minokoshi Y, Kitamura T. Induction of hypothalamic Sirt1 leads to cessation of feeding via agouti-related peptide. *Endocrinology* 2010, 151: 2556-2566. doi: 10.1210/en.2009-1319

11. Tanegashima K, Okamoto S, Nakayama Y, Taya C, Shitara H, Ishii R, Yonekawa H, Minokoshi Y, Hara T. CXCL14 deficiency in mice attenuates obesity and inhibits feeding behavior in a

novel environment. *PLoS One* 2010, 5: e10321. doi:10.1371/journal.pone.0010321

12. Misu H, Takamura T, Takayama H, Hayashi H, Matsuzawa-Nagata N, Kurita S, Ishikura K, Ando H, Takeshita Y, Ota T, Sakurai M, Yamashita T, Mizukoshi E, Yamashita T, Honda M, Miyamoto K, Kubota T, Kubota N, Kadowaki T, Kim H-J, Lee I-K, Minokoshi Y, Saito Y, Takahashi K, Yamada Y, Takakura N, Kaneko S. A liver-derived secretory protein, Selenoprotein P, causes insulin resistance. *Cell Metabolism* 2010, 12: 483-495. doi: 10.1016/j.cmet.2010.09.015

13. Xue B, Pulinilkunnil T, Murano I, Bence KK, He H, Minokoshi Y, Asakura K, Lee A, Haj F, Furukawa N, Catalano KJ, Delibegovic M, Balschi JA, Cinti S, Neel BG, Kahn BB. Neuronal protein tyrosine phosphatase 1B deficiency results in inhibition of hypothalamic AMPK and isoform-specific activation of AMPK in peripheral tissues. *Mol Cell Biol* 2009, 29: 4563-4573. doi: 10.1128/MCB.01914-08

14. Toda C, Shiuchi T, Lee S, Yamato-Esaki M, Fujino Y, Suzuki A, Okamoto S, Minokoshi Y. Distinct effects of leptin and a melanocortin receptor agonist injected into medial hypothalamic nuclei on glucose uptake in peripheral tissues. *Diabetes* 2009, 58: 2757-2765. doi: 10.2337/db09-0638

15. Shiuchi T, Haque MS, Okamoto S, Inoue T, Kageyama H, Lee S, Toda C, Suzuki A, Bachman ES, Kim Y-B, Sakurai T, Yanagisawa M, Shioda S, Imoto K, Minokoshi Y. Hypothalamic orexin stimulates feeding-associated glucose utilization in skeletal muscle via sympathetic nervous system. *Cell Metabolism* 2009, 10: 466-480. doi: 10.1016/j.cmet.2009.09.013

[学会発表] (計 15 件)

1. Okamoto S, Minokoshi Y. AMP-kinase in the paraventricular hypothalamus regulates food selection behavior in mice. The 89th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, Symposium, 2012 年 3 月 31 日, Matsumoto Bunka Kaikan, Matsumoto.

2. Minokoshi Y, Shiuchi T, Hypothalamic and sympathetic control of muscle metabolism. FASEB Summer Research Conferences “Glucose transporters, signaling, and Diabetes”, 2011年8月14日, Snowmass Village Conference Center, Snowmass Village, Colorado, USA

3. 箕越 靖彦, 視床下部 AMPK によるエネルギー代謝調節機構、第30回成長ホルモン成長因子セミナー、2011年6月10日、新宿住友ホール、新宿区、東京都

4. 箕越 靖彦, 視床下部 AMP キナーゼによる摂食調節機構、日本分子生物学会第10回春季シンポジウム、2011年5月25日、石川県立音楽堂交流ホール、金沢市、石川県

5. 箕越靖彦, 食から肥満とやせのなぞを探るー摂食と代謝調節の脳内機構ー、市民公開講座「考えよう！食と健康」、日本栄養改善学会中国支部主催、2010年12月11日、県立広島大学、広島市、広島県

6. Minokoshi Y, Okamoto S, Regulatory role of hypothalamic AMP-kinase in calorie intake and food preference. The FASEB Summer Research Conference, 2010年10月7日, Otsu Prince Hotel, Otsu, Shiga

7. 岡本土毅, 箕越靖彦, 肥満マウスの食餌嗜好性に及ぼす視床下部室傍核 AMP キナーゼの調節作用、第31回日本肥満学会、2010年10月1日、前橋テルサ、前橋市、群馬県

8. Minokoshi Y, Okamoto S, Regulatory role of AMP-kinase in the paraventricular hypothalamus in calorie intake and food preference. 11th International Congress on Obesity. Satellite Symposium, 2010年7月10日, Clarion Hotel, Stockholm, Sweden

9. Minokoshi Y, Okamoto S, Role of the paraventricular hypothalamic AMP kinase in food selection behavior. The 87th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, 2010年5月21日, Morioka Shimin-Bunka Hole, 盛岡市, 岩手県

10. 箕越靖彦, 摂食・代謝調節の脳内機構と栄養環境との相互作用、脳科学研究教育センターシンポジウム、2010年4月7日、北海道大学、札幌市、北海道

11. Minokoshi Y, Okamoto S, Role of hypothalamic AMP kinase in food selection behavior. ICE2010 14th International

Congress of Endocrinology, Symposium AMP kinase 2010年3月30日, Kyoto International Conference Center, Kyoto.

12. 箕越 靖彦, 視床下部室傍核 AMP キナーゼによる食餌嗜好性調節機構、第63回日本栄養・食糧学会大会、シンポジウム「中枢と末梢を結ぶ摂食調節機構」、2009年5月20日、長崎市茂里町ブリックホール、長崎市、長崎県

13. Minokoshi Y, Role of a novel protein phosphatase CIPP in leptin-induced suppression of AMPK activity in the arcuate hypothalamus. 2009 Nanjing Symposium on Obesity & Diabetes, 2009年5月16日, Nanjing University, Nanjing, China

14. Minokoshi Y, Regulatory role of AMP-kinase in the paraventricular hypothalamus in calorie intake and food preference. NRL International Mini-Symposium “A Recent Progress in the Research of Obesity and Related Metabolic Disorder”, 2009年5月14日, Asan Medical Center, Seoul, Korea

15. 岡本土毅, 箕越靖彦, 視床下部 AMP キナーゼによる食餌嗜好性の調節作用 第82回日本内分泌学会、2009年4月24日、群馬県民会館、前橋市、群馬県

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.nips.ac.jp/endocrlin/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

箕越 靖彦 (MINOKOSHI YASUHIKO)
生理学研究所・発達生理学研究室・教授
研究者番号：10200099

(2) 連携研究者

岡本 士毅 (OKAMOTO SHIKI)
生理学研究所・発達生理学研究室・助教
研究者番号：40342919

志内 哲也 (SHIUCHI TETSUYA)
生理学研究所・発達生理学研究室・助教
(現 徳島大学大学院・ヘルスバイオサイエンス研究部・講師)
研究者番号：70372729