

## 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11日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22590228

研究課題名（和文） オレキシン2型受容体を介する肥満抵抗性の解明

研究課題名（英文） Elucidation of the role of orexin type 2 receptor in the obesity resistance

研究代表者

船戸 弘正 (FUNATO HIROMASA)

東邦大学・医学部・准教授

研究者番号：90363118

研究成果の概要（和文）：オレキシンによる体重制御機構を明らかにするために形態学および薬理学的検討を行い、背側縫線核の亜区域が責任領域であることを示す結果を得た。オレキシンを含む神経細胞群のエピジェネティック機構に関する分子的多様性を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：To elucidate how orexin regulates body weight, we performed pharmacological and morphological studies. We found out that a specific subregion of the dorsal raphe nucleus is crucial for the regulation. In addition, we revealed the molecular diversity in the epigenetic mechanism of the neural groups including orexinergic neurons.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

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：解剖学 神経科学 体重制御 肥満 神経ペプチド

## 1. 研究開始当初の背景

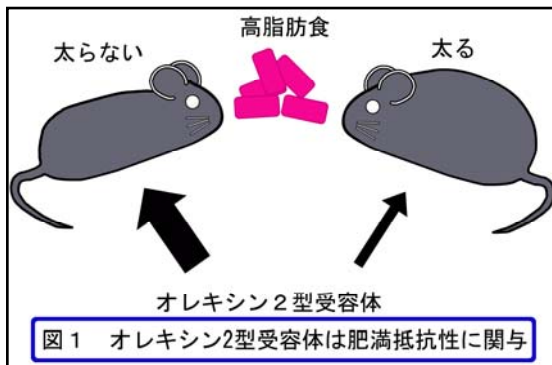
個体には体重を安定的に維持するためのフィードバックシステムがあり、毎日の食事量や運動量の違いによらずほぼ一定した体重を保つことができる。この体重の恒常性維持機構は食糧が不足しがちな環境で個体が生き延びていくために形成されたと考えられ、体重が減少する方向には強くブレーキがかかるが、体重が増加する方向には制御が緩い。そのため、安価な高脂肪高カロリー食が普及した現代社会で、肥満人口が世界的に急激に増えている。しかし「太りやすさ」といわれる肥満への脆弱性には大きな個人差がある。「太りにくい人」は高脂肪高カロリー

の食事を食欲のままに食べていても太らないが、「太りやすい人」はつねに食事のカロリー量や体重を管理していても太ってしまう。現代の肥満は、太りやすい遺伝的素因を持つ人が、容易に高脂肪高カロリー食が手に入る環境に生活する結果として起きていることから、肥満研究の最重要課題の一つは食事の違いがどのように体重増加に結びつくのかを理解することである。また、肥満しにくい人がなぜ肥満しにくく、食事内容に関わらず一定の体重を維持できるのかを理解することは、肥満を防ぐうえで大変有用な知見となり、その機構を強めるような神経伝達物質の受容体は抗肥満薬開発の魅力的なター

ゲットとなる。最近、研究代表者はオレキシンという神経ペプチドがオレキシン2型受容体を介して、体重の維持や肥満抵抗性に関与していることを明らかにした (Funato et al. *Cell Metabolism* 2009)。遺伝学的手法や薬理学的方法で、オレキシン2型受容体の活性を高めると、高脂肪高カロリー食飼育でもマウスは肥満しなくなる。これは体重制御におけるオレキシン2型受容体の重要性を明らかにした先駆的な研究結果であるが、オレキシン2型受容体を発現する複数の脳部位のなかで、どの部位が体重制御に関与しているかは明らかになっていない。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、これまでの研究をさらに発展させ、オレキシン2型受容体を発現している脳部位のなかで個体の体重恒常性維持に関わっている部位を特定し、オレキシンが体重を制御する機構を明らかにすることである (図1)。



## 3. 研究の方法

オレキシン細胞欠損マウスにオレキシン2型アゴニストを部位特異的投与  
オレキシン2型アゴニスト投与を高脂肪食飼育で行った。コントロールとして低脂肪食飼育での検討も行った。野生型に加えて、より強い変化を期待して高脂肪食高カロリー食飼育で肥満することが知られているオレキシン神経欠損マウスを用いた。オレキシン神経欠損マウス(10週齢、雄)の背側縫線核にカニューラを留置し皮下に埋めた浸透圧ポンプ(model 2001; Alzet)と接続しオレキシン2型受容体アゴニスト([Ala11, D-Leu15]orexin-B)を持続投与した。高脂肪食D12451(45%脂肪; Research Diets)で飼育中2週間の体重と摂餌量を毎日測定した。さらに2週後に視床下部腹内側部を取り出し、RNeasy lipid tissue kit(Qiagen)を用いてトータルRNAを調整し、逆転写後にreal-time PCRを行い摂食関連分子(NPY, AGRP, POMC等)の発現変化を検討した。Real-time PCRはSYBR green PCR master mixとABI Prism 7000(共にApplied Biosystems)を用いて行っ

た。

## 4. 研究成果

背側縫線核の亜区域ごとの検討を行い、弓状核との関連の深い部位に特異的に変化が見られた。オレキシン2型アゴニスト投与は弓状核や室房核にも行ったが技術的な問題もあり明確な結論が得られていない。今後はアデノ随伴ウイルスを用いて、背側縫線核におけるオレキシン2型受容体の役割を、個体レベルで証明していく。

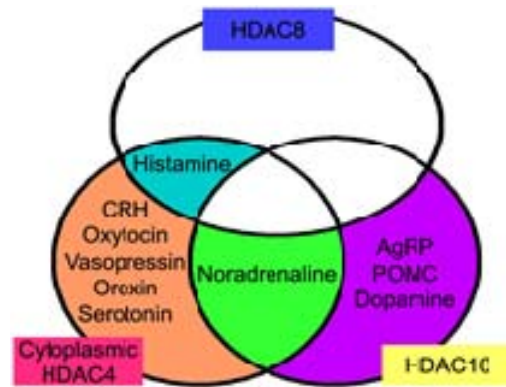


図2 神経細胞集団によるHDAC発現の違い

摂食、体重制御に関わる神経ペプチドおよびモノアミン産生神経細胞群におけるヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)ファミリーの発現を検討したところ、HDAC1やHDAC2のように各神経細胞群に発現しているものから、HDAC8のようにヒスタミン作動性神経細胞のみに発現しているものまでバラエティーが認められた(図2)。神経細胞群はHDAC発現プロファイルによって分類できることが明らかとなった。引き続き本研究で示唆された神経ペプチドとHDACとのインタラクションを、遺伝子改変マウスやウイルスベクターを用いて明らかにする。

## 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7件)

- ① Kenkichi Takase, Satoko Oda, Masaru Kuroda, Hiromasa Funato, Monoaminergic and neuropeptidergic neurons have distinct expression profiles of histone deacetylases *PLoS One* 査読有 8:e58473, 2013 DOI: 10.1371/journal.pone.0058473.
- ② Hiromasa Funato, Satoko Oda, Junko Yokofujita, Hiroaki Igarashi, Masaru Kuroda, Fasting and high-fat diet alter histone deacetylase expression in the medial hypothalamus, *PLoS One*

- 査読有 6:e18950:1-8, 2011 DOI: 10.1371/journal.pone.0018950.
- ③ Teruyuki Hobara, Shusaku Uchida, Koji Otsuki, Toshio Matsubara, Hiromasa Funato, Koji Matsuo, Masatomo Suetsugi, Yoshifumi Watanabe. Altered gene expression of histone deacetylases in mood disorder patients, *Journal of Psychiatric Research*, 査読有、44:263-270, 2010 DOI:10.1016/j.jpsychires.2011.01.016.
- ④ Satoko Oda, Hiromasa Funato, Satomi Adachi-Akahane, Masanori Ito, Akiko Okada, Hiroaki Igarashi, Junko Yokofujita, Masaru Kuroda, Dopamine D5 receptor immunoreactivity is differentially distributed in GABAergic interneurons and pyramidal cells in the rat medial prefrontal cortex. *Brain Research* 査読有 1329:89-102, 2010 DOI:10.1016/j.brainres.2010.03.011
- ⑤ Koji Otsuki, Shusaku Uchida, Yusuke Wakabayashi, Toshio Matsubara, Teruyuki Hobara, Hiromasa Funato, Yoshifumi Watanabe, Aberrant REST-mediated transcriptional regulation in major depressive disorder, *Journal of Psychiatric Research* 査読有 44:378-384, 2010 DOI:10.1016/j.jpsychires.2009.09.009.
- ⑥ Hiromasa Funato, Makito Sato, Christopher M. Sinton, Laurent Gautron, S. Clay Williams, Amber Skach, Joel K. Elmquist, Arthur I. Skoultschi, Masashi Yanagisawa, Loss of Goosecoid-like and DiGeorge syndrome critical region 14 in interpeduncular nucleus results in altered regulation of rapid eye movement sleep, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 査読有 107:18155-18160, 2010 DOI:10.1073/pnas.1012764107.
- ⑦ Shusaku Uchida, Kumiko Hara, Ayumi Kobayashi, Hiromasa Funato, Teruyuki Hobara, Koji Otsuki, Hirotaka Yamagata, Bruce S. McEwen, Yoshifumi Watanabe, Early life stress enhances behavioral vulnerability to stress through the activation of REST4-mediated gene transcription in the medial prefrontal cortex of rodents. *Journal of Neuroscience* 査読有 30:15007-15018, 2010 DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1436-10.2010.
- [学会発表] (計8件)
- ① Hiromasa Funato, Kenkichi Takase, Masaru Kuroda, Satoko Oda, Differential expression of histone deacetylases in neuronal groups regulating feeding and body weight, *Keystone symposia, Banff Canada*2013.03.18
- ② Kenkichi Takase, Satoko Oda, Junko Yokofujita, Masaru Kuroda, Hiromasa Funato, Monoaminergic and neuropeptidergic neurons show distinct expression profiles of histone deacetylases, 第35回日本神経科学学会大会 Neuro2012 名古屋 2012.9.12
- ③ 高瀬堅吉, 小田哲子, 横藤田純子, 黒田優, 船戸弘正, 摂食関連ペプチド MCH の多様な役割と、各行動に与える効果量のメタ分析、日本行動科学学会 2012 年次総会, 東京, 2012.9.11
- ④ 船戸弘正 高瀬堅吉 小田哲子 横藤田純子 黒田優, Fasting and high-fat diet alter histone deacetylase expression in the medial hypothalamus, 第117回日本解剖学会総会・全国学術集会, 甲府 2012.3.28
- ⑤ Makito Sato, Christopher Sinton, Toshiyuki Motoike, Vivek Kumar, Hiromasa Funato, Joseph Takahashi, Masashi Yanagisawa, Forward genetic analysis of sleep behavior in mice, FIRST 国際シンポジウム「行動神経科学の最前線ー睡眠の謎に挑むー」 2012.3.19 東京
- ⑥ 船戸弘正, オレキシシンと摂食・エネルギー代謝調節、シンポジウム-29「脳による摂食・エネルギー代謝調節」オレキシシンと摂食・エネルギー代謝調節. 第116回日本解剖学会総会・全国学術集会 *Journal of Physiological Sciences* 誌上開催 2011.3
- ⑦ Satoko Oda, Hiromasa Funato, Hiroaki Igarashi, Junko Yokofujita, Masaru Kuroda, Dopamine D5 receptor immunoreactivity is differentially distributed in GABAergic interneurons and pyramidal cells in the rat medial prefrontal cortex, 第33回日本神経科学学会大会 Neuro 2010, 神戸 2010.9.3
- ⑧ Hiromasa Funato, Makito Sato, Christopher M. Sinton, Laurent

Gautron, S. Clay Williams, Joel K. Elmquist, Masaru Kuroda, Arthur I. Skoultschi, Masashi Yanagisawa、Loss of Goosecoid-like and Dgcr14 in interpeduncular nucleus alters the expression of REM sleep, 第33回日本神経科学学会大会 Neuro 2010, 神戸 2010.09.02

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

船戸 弘正 (FUNATO HIROMASA)

東邦大学・医学部・准教授

研究者番号：90363118

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし