

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月 1日現在

機関番号：12301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23790270

研究課題名（和文） 視床下部 Sirt1 によるエネルギーバランス制御の分子機構の解明

研究課題名（英文） Elucidation of the role of hypothalamic Sirt1 in energy balance regulation.

## 研究代表者

佐々木 努 (SASAKI TSUTOMU)

群馬大学・生体調節研究所・准教授

研究者番号：50466687

研究成果の概要（和文）：NAD<sup>+</sup>依存性脱アセチル化酵素 Sirt1 のエネルギーバランス調節への役割を検討するために、POMC もしくは AgRP ニューロンでのコンディショナルノックイン(KI)マウスを作製・解析した。その結果、POMC ニューロンの Sirt1 は交感神経系を介してエネルギー消費を刺激し、AgRP ニューロンの Sirt1 は摂食を抑制し、エネルギーバランスを負に制御する。食事性肥満は視床下部 Sirt1 による抗肥満効果を抑制することが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：In order to address the role of Sirt1, an NAD<sup>+</sup>-dependent deacetylase, in regulating energy balance, we analyzed POMC or AgRP Sirt1 conditional knock-in mice. We found that Sirt1 in POMC neurons stimulates energy expenditure through sympathetic nervous system while Sirt1 in AgRP neurons suppresses food intake, thereby negatively regulating energy balance. Meanwhile we found that diet-induced obesity suppresses the function of hypothalamic Sirt1 and promotes positive energy balance.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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：視床下部、Sirt1、摂食調節、エネルギー消費、交感神経

## 1. 研究開始当初の背景

長寿遺伝子 Sirt1 は、カロリー摂取制限という食事療法的一种による健康・長寿に必須な NAD<sup>+</sup>依存性のタンパク脱アセチル化酵素で、様々な基質を介して末梢臓器（肝臓、膵臓、骨格筋、脂肪）でエネルギー代謝を制御することが報告されていた。しかし、摂食・エネルギー消費制御機構における視床下部 Sirt1 の役割は未解明だった。申請者は最近、定位脳手術によるアデノウイルス microinjection 法による視床下部内側基底

部での Sirt1 強制発現実験系、そして野生型マウスと肥満モデルマウスに対する絶食・再摂食実験系を用いて視床下部 Sirt1 と摂食の関係について以下の4点を報告した (Sasaki T et al., Endocrinology. 2010)。

(1) Sirt1 は視床下部特異的に絶食時に蛋白量が減少（他臓器や脳の他の部位では増加）する。

(2) この食事性の視床下部 SIRT1 制御機構は過食・肥満モデルマウスで破たんしている。

(3) Sirt1 は視床下部特異的にユビキチン化され、この蛋白修飾は絶食時に増加する。

(4) 過食モデルマウスにおける視床下部内側基底部での Sirt1 強制発現が摂食促進性神経ペプチド Agrp 発現抑制を介して過食と体重増加を抑制する。

しかし、定位脳手術によるアデノウイルス microinjection 法での遺伝子の強制発現には二つの問題点が存在する。①持続期間が短い(通常2週間程度)。②ウイルス注入後2日間ほどは手技とウイルスの副作用のため摂食量と体重が減少する。その結果、視床下部 Sirt1 とエネルギーバランス(摂食とエネルギー消費)制御機構の長期的検討が課題として残った。

上記のとおり、視床下部 Sirt1 とエネルギーバランスに関する報告が、我々と国外の複数のグループからなされていたが、結果がまちまちでコンセンサスを得られるには至っていなかった。つまり、視床下部 Sirt1 によるエネルギーバランス制御機構は未解決課題として存在した。

## 2. 研究の目的

視床下部 Sirt1 のエネルギーバランス(摂食とエネルギー消費)制御機構を明らかにし、抗肥満治療への研究展開の基盤を確立することを目的とした。

## 3. 研究の方法

申請者らが作成した Rosa26-Sirt1 コンディショナルノックインマウスを Pomc-Cre・Agrp-Cre マウスと掛け合わせ、体重、脂肪量、摂食量、酸素消費量、行動量、ミトコンドリア関連遺伝子等の発現解析、血中ホルモン測定などを行った。

## 4. 研究成果

POMC ニューロンでの野生型 Sirt1 の過剰発現は、摂食量の変化を伴わず基礎代謝亢進により加齢に伴う体重増加を抑制した。基礎代謝の亢進は脂肪組織への交感神経活性の上昇を伴い、褐色脂肪細胞のミトコンドリア関連遺伝子の発現亢進、寒冷刺激時の体温維持および白色皮下脂肪の褐色化の亢進、および脂質分解の亢進が認められた。その結果、POMC ニューロンの Sirt1 は脂肪組織への交感神経活性を高めることでエネルギー消費を刺激して加齢に伴う体重増加を抑制することが分かった。

それに対し AgRP ニューロンでの野生型 Sirt1 の過剰発現は、基礎代謝の変化を伴わず摂食量の抑制により加齢に伴う体重増加を抑制した。これらの表現型はオスでのみ認められた。以上より、AgRP ニューロンの Sirt1 は摂食抑制により体重増加を抑制することが分かった。

さらに、我々はマウス及び視床下部細胞株 N41 での検討により、Sirt1 はレプチン抵抗性因子のタンパク量を減少させ、レプチン感受性を改善することが分かった。すなわち、レプチン感受性の改善が POMC ニューロン及び AgRP ニューロンでの Sirt1 による体重増加の抑制の分子メカニズムの一つであることを明らかにした。

しかし、高脂肪高ショ糖食負荷による食事性肥満に対してはこれらの遺伝子改変マウスは抵抗性を示さず、Sirt1 過剰発現による体重増加抑制効果は完全に消失した。食事性肥満では視床下部弓状核での Sirt1 過剰発現の減弱および視床下部 NAD<sup>+</sup> 含量の減少が認められ、Sirt1 の機能が阻害されたことが表現型の消失を引き起こしたと考えられた。

以上より、POMC ニューロンの Sirt1 は交感神経系を介してエネルギー消費を刺激し、AgRP ニューロンの Sirt1 は摂食を抑制し、エネルギーバランスを負に制御することを明らかにした。これらの効果にはレプチン感受性の亢進を伴うことを明らかにした。また、食事性肥満は視床下部 Sirt1 機能を阻害し、エネルギーバランス制御機構を破綻させることも明らかにした。

## 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0件)

[学会発表] (計16件)

①佐々木努、新福摩弓、菊池司、ビナヤンティスサントイ、橋本博美、小林雅樹、北村忠弘、視床下部弓状核の Sirt1 はエネルギーバランスを負に制御する、第86回日本内分泌学会学術総会、2013.4.25、仙台

②Sasaki T, Shimpuku M, Kikuchi O, Susanti VY, Yokota-Hashimoto H, Kobayashi M, Kitamura T, Hypothalamic Sirt1 overexpression leads to a negative energy balance, The 90th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, 2013.3.27、

東京

③ Sasaki T, Kitamura T, Hypothalamic Sirt1 achieves negative energy balance by stimulating energy expenditure in POMC neurons and by suppressing food intake in AgRP neurons、Keystone Symposium “Neuronal Control of Appetite, Metabolism and Weight” 2013.3.20、Banff, Alberta (カナダ)

④ Tsutomu Sasaki, Mayumi Shimpuku, Osamu Kikuchi, Vina Yanti Susanti, Hiromi Yokota-Hashimoto, Masaki Kobayashi, Tadahiro Kitamura、Hypothalamic Sirt1 achieves negative energy balance by stimulating energy expenditure in POMC neurons and by suppressing food intake in AgRP neurons、Keystone Symposia on Aging and Diseases of Aging、2012.10.25、東京

⑤ 佐々木努、新福摩弓、菊池司、橋本博美、小林雅樹、北村忠弘、POMC・AgRPニューロンでの Sirt1 過剰発現マウスの摂食・エネルギー消費調節機構、第33回日本肥満学会、2012.10.11、京都

⑥ 佐々木努、新福摩弓、菊池司、天野剛介、北住知也、橋本博美、小林雅樹、北村忠弘、視床下部 Sirt1 による抗肥満効果の分子メカニズム、第35回日本神経科学大会、2012.9.18、名古屋

⑦ 佐々木努、新福摩弓、菊池司、橋本博美、小林雅樹、北村忠弘、POMC・AgRPニューロンでの Sirt1 過剰発現マウスの摂食・エネルギー消費調節機構、第55回日本糖尿病学会、2012.5.19、横浜

⑧ 佐々木努、新福摩弓、菊池司、橋本博美、小林雅樹、北村忠弘、POMC・AgRPニューロンでの Sirt1 過剰発現マウスの摂食・エネルギー消費調節機構、第85回日本内分泌学会、2012.4.19、名古屋

⑨ Sasaki T, Shimpuku M, Kikuchi O, Yokota-Hashimoto H, Kobayashi M, Kitamura T, Induction of Sirt1 expression in the murine hypothalamic AgRP and Pomc neurons leads to lean phenotype due to decreased food intake and increased energy expenditure、The 89th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan、2012.3.29、

松本市 (長野県)

⑩ Sasaki T, Kitazumi T, Amano K, Kikuchi O, Shimpuku M, Yokota-Hashimoto H, Kobayashi M, Kitamura T, Induction of Sirt1 expression in the murine hypothalamic AgRP and Pomc neurons leads to lean phenotype due to decreased food intake and increased energy expenditure、Keystone Symposium “Sirtuins in Metabolism, Aging and Disease”、2012.2.14、Tahoe City, California (米国)

⑪ Tsutomu Sasaki, Tadahiro Kitamura、Conditional Knock-in of SIRT1 in AGRP or POMC Neurons Lead to Lean Phenotype due to Decreased Food Intake and Increased Energy Expenditure、American Diabetes Association Research Symposium “Diabetes and the Brain”、2011.10.30、Alexandria, Virginia (米国)

⑫ 佐々木努、北住知也、天野剛介、菊池司、橋本博美、小林雅樹、北村忠弘、AgRP・Pomcニューロンでの Sirt1 過剰発現マウスでの摂食・エネルギー消費調節機構、第32回日本肥満学会、2011.9.24、淡路島(兵庫)

⑬ Tsutomu Sasaki, Tomoya Kitazumi, Kosuke Amano, Osamu Kikuchi, Hiromi Yokota-Hashimoto, Masaki Kobayashi, Tadahiro Kitamura、Induction of Sirt1 expression in the murine hypothalamic AgRP and Pomc neurons leads to lean phenotype due to decreased food intake and increased energy expenditure、The 34th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society、2011.9.15、横浜

⑭ Tsutomu Sasaki, Kosuke Amano, Tomoya Kitazumi, Osamu Kikuchi, Masaki Kobayashi, Tadahiro Kitamura、Pomc-Cre; Sirt1 conditional Knock-In Mice Present Lean Phenotype Due to Increased Energy Expenditure、American Diabetes Association 71st Scientific Sessions、2011.6.26、San Diego, California (米国)

⑮ 佐々木努、天野剛介、北住知也、菊池司、小林雅樹、北村忠弘、POMC陽性神経細胞の Sirt1 はエネルギー消費を制御する、第54回日本糖尿病学会、2011.5.19、札幌

⑩佐々木努、天野剛介、北住知也、菊池司、小林雅樹、北村忠弘、Rosa26-Sirt1 ノックインマウスを用いた視床下部 Sirt1 とエネルギーバランスの解析、第 84 回日本内分泌学会学術総会、2011. 4. 23、神戸国際会議場

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

佐々木 努 (SASAKI TSUTOMU)

群馬大学・生体調節研究所・准教授

研究者番号：50466687

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし