

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：63905

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24390058

研究課題名(和文) 視床下部腹内側核を介した摂食調節ホルモンの摂食・代謝調節作用とその統合機構

研究課題名(英文) Role of the ventromedial hypothalamus in the regulation of food intake and metabolism.

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,500,000円

研究成果の概要(和文)：レプチンが視床下部腹内側核(VMH)ニューロンを通してどのようにマウスにおいて代謝調節作用を営むかを、Hyperinsulinemic-euglycemic clampと2DG法を用いて調べた。また、代表的なVMHニューロンの一つであるAd4BPニューロンをDREADD法によって選択的に活性化し、摂食量と代謝に及ぼす効果を調べた。レプチンは、骨格筋と肝臓のインスリン感受性を高め、骨格筋での糖取込を促進する一方、肝臓からの糖産生を抑制した。Ad4BPニューロンをDREADD法によって選択的に活性化することによっても、骨格筋と肝臓でのインスリン感受性を高めた。また摂食も抑制した。

研究成果の概要(英文)：We examined the role of the ventromedial hypothalamic (VMH) neuron in the control of metabolism in mice by using Hyperinsulinemic-euglycemic clamp and 2DG method. We also examined the effect of preferential activation of Ad4BP neuron in the VMH on food intake and metabolism. Leptin increased glucose uptake in muscle and inhibited glucose production in the liver by enhancing insulin sensitivity. Activation of Ad4BP neuron in the VMH by DREADD inhibited food intake and increased insulin sensitivity in skeletal muscle and the liver. These results thus suggested that VMH neurons play an important role in insulin sensitivity in skeletal muscle and the liver as well as food intake.

研究分野：生理学

キーワード：視床下部 代謝 摂食 レプチン DREADD

1. 研究開始当初の背景

視床下部は、摂食と末梢組織の代謝を統合的に調節する。我々は、これまでに、レプチンが視床下部腹内側核 (VMH) ニューロンを介して骨格筋でのグルコースの取込及び脂肪酸酸化を促進することを明らかにしてきた。また、脂肪酸酸化の亢進作用には AMPK の活性化が関与することを報告した。さらに、VMH にレプチンを投与した時の骨格筋での糖の取込、脂肪酸酸化の促進作用には交感神経系が関与することも明らかにした。VMH-交感神経系-骨格筋での糖の取込は、摂食による骨格筋への糖の取込に関与することも明らかとなっている。事実、外側視床下部に存在するオレキシンニューロンは、食物などによって活性化し、VMH ニューロンを活性化することによって、摂取したグルコースの骨格筋への取込を促進した。しかしながら、VMH ニューロンのどのニューロンが骨格筋など末梢組織の代謝に関わっているのか、また摂食がどのように調節されているかは不明である。

2. 研究の目的

そこで本研究では、レプチンを VMH に作用させた時の糖代謝の変化を Hyperinsulinemic-euglycemic clamp、2DG 法によって明らかにする。また、その時の VMH におけるレプチンシグナルについて調べる。さらに、VMH 内の代表的なニューロンである Ad4BP ニューロンを DREADD 法によって選択的に活性化した時の摂食と糖代謝の変化を調べる。

3. 研究の方法

C57BL/6J 雄マウス、Ad4BP ニューロンに Cre recombinase を発現した雄マウス (Ad4BP-Cre マウス) を 10-12 週齢で用いた。マウスの両側 VMH にカニューレを留置し、体重が回復した後、実験を行った。Cre 依存的に発現するレンチウイルスをカニューレを通して Ad4BP-Cre マウスの VMH に感染させ hm3Dq を発現させた。レプチンは VMH 内に直接、あるいは腹腔内に投与した。また、hm3Dq の選択的活性化剤 clozapine-N-oxide (CNO) は腹腔内に投与した。摂食量、エネルギー消費量、末梢組織へのグルコースの取込を調べた。レプチンまたは CNO を投与したマウスは、Hyperinsulinemic-euglycemic clamp、2DG 法によって糖代謝への効果を調べた。また、レプチンの投与実験では、VMH においてどのような細胞内シグナルを介して糖代謝を制御しているかを解析するため、STAT3 シグナル阻害剤、PI3K シグナル阻害剤、MEK/ERK シグナル阻害剤を VMH に投与してレプチンの効果を調べた。

4. 研究成果

(1) VMH にレプチンを投与すると、肝臓と骨格筋においてインスリン感受性が亢進し、骨

格筋では糖の取込が亢進した。また肝臓ではインスリンによる糖産生の抑制作用が増強した。インスリンを投与しない実験条件では、骨格筋での糖取込が亢進したが、肝臓からの糖産生は増強し、血糖を一定に保った。

(2) レプチンは、VMH において STAT3、PI3K、MEK/ERK シグナルを活性化した。阻害を投与して糖代謝の変化を調べたところ、MEK/ERK 阻害剤によって、レプチンによる骨格筋への糖取込促進作用が抑制された。一方、肝臓におけるインスリン感受性亢進作用は STAT3 阻害剤によって抑制された。MEK/ERK 阻害剤は VMH においてレプチンによる synapsin の発現亢進作用も抑制した。

(3) 我々はこれまでに、レプチンによる骨格筋での糖取込促進作用が VMH のメラノコルチン受容体を介することを報告している。そこでメラノコルチン受容体活性化剤である MT-11 を投与して MEK/ERK 阻害剤の効果を調べた。その結果、MT-11 を VMH に投与すると、骨格筋での糖の取込を促進したが、肝臓におけるインスリン感受性は亢進しなかった。また、MT-11 による骨格筋への糖の取込促進作用は MEK/ERK、STAT3、PI3K 阻害剤によって抑制されなかった。以上の実験結果から、レプチンは、VMH ニューロンに作用して VMH ニューロンの MEK/ERK シグナルを介して神経可塑性を変化させ、VMH 内の POMC ニューロンとメラノコルチン受容体とのシナプス伝達を高め、これにより骨格筋での糖の取込を促進すると考えられる。

(4) Ad4BP ニューロンは、成長したマウスの脳において VMH に選択的に発現している。そこで、Ad4BP ニューロンに hm3Dq を発現させ、CNO で選択的に活性化した時の摂食量、エネルギー消費、Hyperinsulinemic-euglycemic clamp、2DG 法を用いた糖代謝の変化を調べた。その結果、Ad4BP ニューロンを活性化すると摂食量が低下し、エネルギー消費が亢進した。また、骨格筋と肝臓でのインスリン感受性が亢進し、骨格筋においては糖の取込が、肝臓においてはインスリンによる糖産生の抑制作用が増強した。この結果と一致して、骨格筋では Akt のリン酸化が亢進しており、また肝臓では PEPCK、G6Pase の mRNA 発現が低下していた。

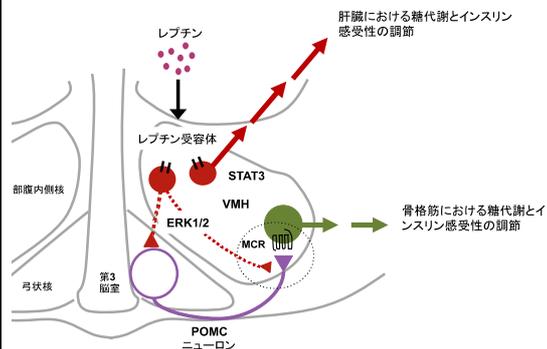


図 VMH におけるレプチンのシグナル伝達機構

(5) 以上の実験結果から、VMH は、エネルギー代謝及び糖代謝に重要な調節作用を及ぼすことが明らかとなった。

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 10 件)

Tabuchi S, Tsunematsu T, Black SW, Tominaga M, Maruyama M, Takagi K, Minokoshi Y, Sakurai T, Kilduff TS, Yamanaka A. Conditional ablation of orexin/hypocretin neurons: a new mouse model for the study of narcolepsy and orexin system function. *J Neurosci* 2014, 34: 6495-6509. 査読有

doi:10.1523/JNEUROSCI.0073-14.2014
Sasaki T, Kikuchi O, Shimpuku M, Susanti VY, Yokota-Hashimoto H, Taguchi R, Shibusawa N, Sato T, Tang L, Amano K, Kitazumi T, Kuroko M, Fujita Y, Maruyama J, Lee YS, Kobayashi M, Nakagawa T, Minokoshi Y, Harada A, Yamada M, Kitamura T. Hypothalamic SIRT1 prevents age-associated weight gain by improving leptin sensitivity in mice. *Diabetologia* 2014, 57: 819-831. 査読有

doi:10.1007/s00125-013-3140-5
Toda C, Shiuchi T, Kageyama H, Okamoto S, Coutinho EA, Sato T, Okamatsu-Ogura Y, Yokota S, Takagi K, Tang L, Saito K, Shioda S, Minokoshi Y. Extracellular signal-regulated kinase in the ventromedial hypothalamus mediates leptin-induced glucose uptake in red-type skeletal muscle. *Diabetes* 2013, 62: 2295-2307. 査読有

doi:10.2337/db12-1629
Minokoshi Y, Toda C, Okamoto S. Regulatory role of leptin in glucose and lipid metabolism in skeletal muscle. *Indian J Endocrinol Metab* 2012, 16: S562-S568. 査読有

doi: 10.4103/2230-8210.105573
Ogawa N, Ito M, Yamaguchi H, Shiuchi T, Okamoto S, Wakitani K, Minokoshi Y, Nakazato M. Intestinal fatty acid infusion modulates food preference as well as calorie intake via the vagal nerve and midbrain - hypothalamic neural pathways in rats. *Metabolism* 2012, 61: 1312-1320. 査読有

doi:10.1016/j.metabol.2012.02.011
Tanaka M, Suganami T, Kim-Saijo M,

Toda C, Tsuji 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. 査読有

doi:10.1523/JNEUROSCI.6562-10.2011
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. 査読有

doi:10.1371/journal.pone.0018324
Hoivik EA, Bjanesoy TE, Mai O, Okamoto S, Minokoshi Y, Shima 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. 査読有

doi:10.1210/en.2010-1305

[学会発表](計 6 件)

箕越靖彦

視床下部による骨格筋への代謝調節作用、第 41 回日本神経内分泌学会学術集会、教育講演、2014、都道府県会館、東京都千代田区、10 月 31 日-11 月 2 日

Yasuhiko Minokoshi, Chitoku Toda

Leptin enhances insulin-induced glucose uptake in skeletal muscle via MEK/ERK signaling in the ventromedial hypothalamus.

2014 Asia-Pacific Diabetes and Obesity Study Group, 2014, Grand Hilton Seoul, Seoul, Korea, May 16-17

Yasuhiko Minokoshi, Chitoku Toda

Role of the ventromedial hypothalamus in leptin-induced glucose metabolic regulation in skeletal muscle and the liver.

The 91st Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, 2014, Kagoshima University, Kagoshima, Kagoshima, March 16-18

箕越靖彦, 戸田知得

骨格筋でのグルコース取り込みに及ぼす視床下部の調節機構

第 34 回日本肥満学会、2013、国際フォーラム、東京千代田区、10 月 11-12 日

戸田知得、志内哲也、箕越靖彦

レプチンは視床下部腹内側核において異なるシグナル伝達因子を介して骨格筋および肝臓のインスリン感受性を調節する、第 76 回日本生化学会中部支部例会、2012、岡崎カンファレンスセンター、愛知県岡崎市、5 月 26 日

戸田知得、志内哲也、箕越靖彦

レプチンは視床下部腹内側核において異なるシグナル伝達因子を介して骨格筋および肝臓のインスリン感受性を調節する、第 85 回日本内分泌学会、2012、名古屋国際会議場、愛知県名古屋市、4 月 19-21 日

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.nips.ac.jp/research/group/post-16/>

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

戸田 知得 (Toda, Chitoku)

生理学研究所・発達生理学研究室・特別協力研究員 研究者番号：70571199

(平成 24 年度まで連携研究者)