

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 27 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790943

研究課題名(和文)報酬系神経回路の異常病態から見た過食メカニズムの解明と肥満症の治療戦略

研究課題名(英文) Finding of the overeating mechanism and the therapeutic strategy of obesity by new approach from reward circuit.

研究代表者

山田 伸子 (Yamada, Nobuko)

慶應義塾大学・医学部・特任助教

研究者番号：50400891

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：高脂肪食を2週間摂食させた時点では、普通食を食べた時に比べ体重や内臓脂肪は付き始めるが、血糖値などの代謝パラメータに差は認められない。この動物の脳内をそのまま解析すると、大きな変化は認められないが、絶食させたり、絶食した後に再び食べさせたりすると変化が大きくなることが明らかになった。また、摂食量を調節する薬物を脳室内に投与するとその反応性も変化していることが明らかになった。この変化は脳内の複数の神経核で認められ、共通するメカニズムの存在の可能性が示された。

研究成果の概要(英文)： To elucidate the mechanism of overeating in human obesity, we analyzed regulatory system of food intake in the mice brain. We used mice fed on a high-fat diet.

Mice fed on a high-fat diet for 2 weeks gained more weight and visceral fat compared with control mice. S till they did not show any increment of blood glucose levels. With modification by fasting and fasting-refeeding, mice fed on a high-fat diet exhibited many differences in gene expressional patterns and responses to drug administration. These changes were observed in several nucleus in the brain suggesting that there might be common underline mechanism.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内分泌学

キーワード：肥満 高脂肪食 報酬系 過食 食事性肥満モデル 摂食調節 視床下部 慢性炎症

1. 研究開始当初の背景

肥満は過剰に摂取されたエネルギーが脂肪組織などに蓄積されて形成され、過食が主要な原因であると考えられる。摂食行動は生体の代謝状況を反映した視床下部によるホメオスタティックな調節系と、高嗜好性食物（高脂肪食や甘い物）に対する動機づけ（欲しいから食べる）を調節する中脳辺縁系ドーパミン神経系（報酬系）によって調節されている (Schwartz, Nature, 2000; Matias, Trends Endocrin Met, 2007)。肥満者では、気分の落ち込みや高揚などの情動の変化や、高嗜好性食物を目にした時など、エネルギーホメオスタシスと独立して摂食行動が引き起こされることが知られており、(Kelly, Physiol Behav, 2005)、この行動に報酬系が関与していることが示唆されている。コカイン、アルコール、高嗜好性食物は、報酬系を刺激し、ドーパミン分泌を亢進させ、投射核である側坐核で報酬系のマーカーである FosB の発現を増加させる (Nestler, Nat Rev Neurosci, 2001)。申請者の研究室では、レプチン、グレリン、アミリン、およびC型ナトリウム利尿ペプチド (CNP) を用いた研究を実施してきた。これらのホルモンは末梢あるいは中枢神経系由来の摂食調節因子であり、特に、レプチン、グレリンおよびアミリンについては既に肥満病態においても重要な役割を担っていることが、実験動物およびヒトの解析により明らかにされている。以上を背景に、申請者は、肥満で認められる過食は中脳辺縁系ドーパミン神経系（報酬系）の破綻によって生じるのではないかと、また、その異常病態は、神経可塑性によって減量後も継続するため、容易にリバウンドするのではないかと考えた。さらに、前述のホルモンが、報酬系神経回路に作用している可能性があるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

過食につながる報酬系の病態生理学的意義を明らかにし、新規抗肥満薬の創薬に繋がる基盤的情報を見出すことを目的に、以下の検討を行う。

- (1)高脂肪食誘発肥満モデルマウスの解析
- (2)レプチンの報酬系への作用
- (3)CNP/GC-B系の報酬系への作用

3. 研究の方法

(1)高脂肪食誘発肥満モデルマウスの解析

高嗜好性食物である、60%高脂肪食を2週間摂食させた食事性肥満モデル (HFD) マウスの解析を行った。HFD マウスの摂食量 (kcal) は、自由摂食時は対照マウスと差がなかったが、48時間絶食後4時間再摂食させた時の摂食量 (kcal) は対照マウスに比べ有意に増加していた。

この絶食後の再摂食には、過去の研究により、報酬系が大きく関与していることが明らかにされている。また、摂食調節はエネルギー

ー状態を反映したホメオスタティックな調節と、さらに報酬系や、情動・学習記憶、意志決定のコントロールなどによって調節されている。そこで、このマウスの過食メカニズムを解析する目的で、ホメオスタティックな調節を行う視床下部および報酬系を主に調節する側坐核の主要な神経系関連の mRNA 発現を検討した。さらに、情動や学習記憶、意志決定のコントロールを行う扁桃体、海馬、大脳皮質における mRNA 発現も検討した。さらに、機能的な変化を確認するために、48時間絶食後、再摂食直前にこれらの神経系関連の受容体拮抗薬の脳室内投与を行い、再摂食量に対する作用を検討した。

(2)レプチンの報酬系への作用

レプチン過剰発現トランスジェニック (LepTg) マウスは、血中のレプチン濃度が重症肥満者と同様に正常者の約 10 倍に上昇する。LepTg マウスは WT マウスに比べ、摂食量は少ない (Ebihara et al, Diabetes, 2001)。レプチンの報酬系における役割を検討する目的で、この LepTg マウスの側坐核における報酬系関連因子の mRNA の発現検討を行った。

(3) CNP/GC-B系の報酬系への作用

本研究室で軟骨における解析が先行していた CNP およびその受容体である GC-B は、中枢神経系に高濃度に存在し、取り分け視床下部、線条体尾状核および側坐核に多く発現している (J Comp Neurol, 1995)。さらに、CNP はコカインによる線条体での細胞外ドーパミン濃度の上昇を抑制することが報告されている (Eur J Neurosci, 2001)。また、当研究室の検討により CNP はエネルギー調節系に関与する (Inuzuka et al, Endocrinology, 2010; Yamada-Goto et al, Diabetes, 2013)。そこで、当研究室で作製した脳特異的 GC-B deficient マウスの解析を行った。

4. 研究成果

対照マウスと比較し、自由摂食時には HFD マウスの各 mRNA 発現パターンに明らかな差は認められなかったが、48時間絶食後および48時間絶食後4時間再摂食後では、側坐核、扁桃体、海馬および大脳皮質のいずれの検討部位においても差が認められた。この結果から、2週間の高脂肪食摂取単独では大きな変化は認められないが、絶食単独、あるいは絶食後再摂食という負荷をかけることにより変化が明らかになることから、(1)2週間の高脂肪食負荷により、脳内の報酬系を含む摂食調節系に変化が潜在していること、(2)絶食および絶食後再摂食により、その変化が顕在化すること、が明らかになった。さらに、48時間絶食後、再摂食直前にこれらの神経系関連の受容体拮抗薬の脳室内投与を行った際には、対照マウスと比較し、HFD マウスの

再摂食量に対する反応に一部の薬物投与において差が認められた。これらの結果から、報酬系神経回路の少なくとも一部の神経系が2週間の高脂肪食負荷および絶食再摂食により変化している可能性が示された。

LepTg マウスの検討では、側坐核における報酬系関連 mRNA の発現は対照マウスと比較し、有意に変化しており、同マウスの摂食抑制作用に、報酬系の抑制も関与している可能性が示された。

脳特異的 GC-B deficient マウスの検討では、対照マウスと比較し、48 時間絶食後の再摂食量に差はなく、また、側坐核における報酬系関連 mRNA の発現にも差は認められず、ここまでの検討では、報酬系に明らかな差がある可能性を示すことはできなかった。

本研究は、高脂肪食誘発肥満モデルマウス、レプチンおよび CNP/GC-B 系の遺伝子改変動物の摂食行動および報酬系神経回路を解析することで、肥満の過食メカニズムの解明に対するアプローチを行った。

今後はこれまでの検討で認められた変化が過食や減量後のリバウンドの手掛かりとなると考え、絶食や食事制限にフォーカスをあてていく。さらに、内分泌代謝領域と精神科領域の臨床視点を統括して検討することで、肥満における報酬系の生理的意義を明らかにする。継続研究により、過食につながる報酬系の異常病態の発症経過を明らかにし、治療戦略に結びつける。

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 4 件)

1) Yamada-Goto N, Katsuura G, Ebihara K, Inuzuka M, Ochi Y, Yamashita Y, Kusakabe T, Yasoda A, Satoh-Asahara N, Ariyasu H, Hosoda K, Nakao K. Intracerebroventricular administration of C-Type natriuretic peptide suppresses food intake via activation of the melanocortin system in mice. *Diabetes*, 査読有, 62, 2013:1500-1504. DOI: 10.2337/db12-0718.

2) Yamada-Goto N, Katsuura G, Ochi Y, Nakao K. An approach toward CNS dysfunction associated with metabolic syndrome; implication of leptin, which is a key molecule of obesity, in depression associated with obesity. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi*, 査読無, 32, 2012: 245-250. Japanese. DOIなし. URL:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23373310>

3) Yamada-Goto N, Katsuura G, Ochi Y, Ebihara K, Kusakabe T, Hosoda K, Nakao K. Impairment of fear-conditioning responses and changes of brain neurotrophic factors in diet-induced obese mice. *J Neuroendocrinol*, 査読有, 24, 2012: 1120-1125.

DOI: 10.1111/j.1365-2826.2012.02327.x.

4) Himeno A, Satoh-Asahara N, Usui T, Wada H, Tochiya M, Kono S, Yamada-Goto N, Katsuura G, Hasegawa K, Nakao K, Shimatsu A. Salivary cortisol levels are associated with outcomes of weight reduction therapy in obese Japanese patients. *Metabolism*, 査読有, 61, 2012: 255-261. DOI: 10.1016/j.metabol.2011.06.023.

[学会発表](計 15 件)

1) 山下唯、後藤伸子、勝浦五郎、宮崎由理、今吉格、金本巨哲、三浦晶子、八十田明宏、大日向耕作、影山龍一郎、稲垣暢也、中尾一和. 脂肪肝病態形成における中枢CNP/GC-Bシグナルの役割-高脂肪食負荷脳特異的GC-B欠損マウスによる検討. 第86回日本内分泌学会学術総会 (2014年5月24日~26日:福岡)

2) 山下唯、後藤伸子、勝浦五郎、宮崎由理、今吉格、金本巨哲、三浦晶子、八十田明宏、荒井宏司、細田公則、大日向耕作、影山龍一郎、中尾一和. 脳特異的NPR B欠損マウスの肝臓および内臓脂肪への脂質蓄積抑制効果. 第17回日本心血管内分泌代謝学会学術総会 (2013年11月22日~23日:大阪)

3) 山下唯、後藤伸子、勝浦五郎、宮崎由理、今吉格、金本巨哲、三浦晶子、八十田明宏、荒井宏司、細田公則、大日向耕作、影山龍一郎、中尾一和. 脳特異的NPR B欠損マウスにおける内臓脂肪蓄積および脂肪肝進展抑制効果. 第34回日本肥満学会 (2013年10月11日~12日:東京)

4) **後藤伸子**、伊藤裕. New insight into mental disorders associated with obesity: Possible involvement of leptin and amylin. 第10回インスリン抵抗性とメタボリックシンドローム研究会 (2013年7月6日~7日:東京)

5) Yui Yamashita, **Nobuko Yamada-Goto**, Goro Katsuura, Yukari Ochi, Yuri Miyazaki, Itaru Imayoshi, Hiroyuki Ariyasu, Naotetsu Kanamoto, Masako Miura, Akihiro Yasoda, Hiroshi Arai, Kousaku Ohinata, Ryoichiro Kageyama, Kazuwa Nakao. Brain NPR-B deficiency attenuates high-fat diet-induced hepatic steatosis in mice. The Endocrine Society's 95th Annual Meeting & Expo (2013年6月15日~18日: San Francisco) Endocr Rev, Vol. 34.

6) 山下唯、**後藤伸子**、勝浦五郎、越智ゆかり、今吉格、有安宏之、金本巨哲、三浦晶子、八十田明宏、荒井宏司、影山龍一郎、中尾一和. 脳特異的GC-B deficientマウスの脂肪肝改善作用の検討. 第86回日本内分泌学会学術総会 (2013年4月25日~27日:仙台)

7) 山下唯、**後藤伸子**、勝浦五郎、越智ゆかり、今吉格、有安宏之、金本巨哲、三浦晶子、八十田明宏、荒井宏司、影山龍一郎、中尾一和. 脳特異的GC-B deficientマウスの脂肪肝改善作用の検討. 第86回日本内分泌学会学術総会 (2013年4月25日~27日:仙台)

8) 山下唯、**後藤伸子**、勝浦五郎、越智ゆかり、有安宏之、金本巨哲、三浦晶子、海老原健、八十田明宏、荒井宏司、細田公則、中尾一和. 脳特異的GC-B欠損マウスを用いたCNP/GC-B系の中枢性エネルギー代謝調節に及ぼす作用の解析. 第33回日本肥満学会 (2012年10月11日~12日:京都市)

9) **後藤伸子**、越智ゆかり、勝浦五郎、山下唯、有安宏之、浅原哲子、金本巨哲、海老原健、三浦晶子、八十田明宏、荒井宏司、細田公則、中尾一和. 高脂肪食負荷による絶食後再摂食の反応とオピオイド受容体

アンタゴニストの作用. 第33回日本肥満学会 (2012年10月11日~12日:京都市)

10) **後藤伸子**、勝浦五郎、越智ゆかり、山下唯、海老原健、日下部徹、有安宏之、金本巨哲、三浦晶子、八十田明宏、荒井宏司、細田公則、中尾一和. 肥満に合併するうつ状態に対するアミリンおよびレプチンの抗うつ作用の検討. 第85回日本内分泌学会学術総会 (2012年4月19日~21日:名古屋)

11) 急性ストレスによる報酬系に関わる神経核における fosB mRNAの発現変化. 越智ゆかり、**後藤伸子**、勝浦五郎、山下唯、有安宏之、金本巨哲、三浦晶子、八十田明宏、荒井宏司、細田公則、中尾一和. 第85回日本内分泌学会学術総会 (2012年4月19日~21日:名古屋)

〔図書〕(計 1 件)

Yamada-Goto N, Katsuura G, Nakao K. ISBN 980-953-307-973-3. InTech, Europe, Mental function and Obesity, Functional Brain Mapping and Endeavor to Understand the Working Brain, 2013, DOI: 10.5772/56228.

〔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〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山田 伸子 (Yamada Nobuko)
慶應義塾大学・医学部・特任助教
研究者番号: 50400891