

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：32676

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26430024

研究課題名(和文)肥満治療を目的とした摂食調節機構の解明 中枢ドパミン神経による調節

研究課題名(英文)Research in the regulation of feeding behavior - the role of central dopamine neurons -

研究代表者

池田 弘子 (IKEDA, Hiroko)

星薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：70297844

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、中枢による摂食調節機構を解明する一環で、摂食中枢として知られる視床下部外側野のドパミン神経による摂食調節機構を明らかにすることを目的とした。本研究の結果、腹側被蓋野や黒質緻密部から視床下部外側野へ投射するドパミン神経は摂食によって活性化し、ドパミンD1およびD2受容体を刺激することで摂食行動を終了させることが示唆された。また、ドパミンD1受容体はagouti-related peptide (AgRP) / neuropeptide Y (NPY) 神経を介して、ドパミンD2受容体はorexin神経を介して摂食行動を抑制的に制御することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The present study examined the role of dopaminergic functions in the lateral hypothalamus (LH) in the regulation of feeding behavior. The results in the present study have indicated that dopamine neurons in the LH are activated by food intake, which inhibits food intake by activating dopamine D1 and D2 receptors. In addition, it is suggested that dopamine D1 and D2 receptors in the LH have an inhibitory role in the regulation of feeding behavior through agouti-related peptide (AgRP) / neuropeptide Y (NPY) neurons and orexin neurons, respectively.

研究分野：神経科学

キーワード：摂食調節 ドパミン神経 ドパミン受容体 視床下部

1. 研究開始当初の背景

肥満は全世界的に増加傾向を示し、肥満は高脂血症や糖尿病等の生活習慣病をひき起こすことから社会問題となっている。食事療法は肥満対策の有効な手段の1つだが、実際にはコントロールが難しい。その一因として、摂食欲求による食物の過剰摂取が挙げられる。摂食欲求は依存性薬物と同様に中脳辺縁系ドパミン神経が司り、嗜好性食物による中脳辺縁系ドパミン神経の活性化がさらなる摂食をひき起こすことが報告されている。しかし、摂食抑制薬のマジンドールや、これまでに開発された摂食抑制薬の多くがドパミンなどのモノアミン神経を活性化する。これは、中脳辺縁系ドパミン神経の活性化が摂食亢進をひき起こすという機序と矛盾することから、摂食調節には中脳辺縁系のみならず他のドパミン神経も重要な役割を果たすことが考えられる。

2. 研究の目的

ドパミン神経は脳内に広く分布し、摂食調節に重要な役割を果たす視床下部にも高密度に存在することが報告されている。したがって、視床下部のドパミン神経が摂食調節において重要な役割を果たす可能性が考えられるが、その役割に関する報告は少ない。そこで本研究では、摂食中枢として知られる視床下部外側野のドパミン神経が摂食調節においてどのような役割を果たすか解明することを目的とし、以下について検討した。

- (1) 摂食中枢として知られる視床下部外側野のドパミン神経の活性が摂食によりどのように変化するか。
- (2) どの脳部位から視床下部外側野へドパミン神経が投射しているか。また、視床下部外側野にドパミン D₁ および D₂ 受容体が存在するか。
- (3) 視床下部外側野のドパミン D₁ および D₂ 受容体が摂食調節においてどのような役割を果たすか。
- (4) 視床下部の様々な神経ペプチドが摂食調節において重要な役割を果たすことから、ドパミン神経による摂食調節に視床下部の神経ペプチドが関与するか。

以上の研究により、摂食調節における視床下部のドパミン神経の役割を明らかにした。

3. 研究の方法

(1) In vivo microdialysis 法による視床下部外側野のドパミン量の測定

ICR 系雄性マウスを用い、ペントバルビタール麻酔下で片側の視床下部外側野にガイドカニューレを植立した。約3日後に脳微小透析プローブをガイドカニューレに挿入・固定し、16時間絶食させた。その後、プローブにリンゲル液を灌流し、回収したリンゲル液中に含まれるドパミン量を高速液体クロマトグラフ・電気化学的検出器で定量した。測定値が安定した後、マウスに飼料を与え、摂餌によるドパミン量の変化を経時的に測定した。また、glucose をマウスに投与した際に視床下部外側野のドパミン量がどう変化するかについても測定した。

(2) ドパミン神経やドパミン受容体の分布

ICR 系雄性マウスを用い、ペントバルビタールの深麻酔下で4%パラホルムアルデヒド液で灌流固定し、脳組織を同固定液で浸漬固定した。ショ糖溶液で置換した後、包埋し、ミクロトームで8 μmの厚さに薄切した。ホースキットでブロッキングの後、一次抗体(抗ドパミン D₁ 受容体抗体、抗ドパミン D₂ 受容体抗体) および二次抗体で免疫染色を行った。ドパミン神経の投射様式を調べる目的で、Wistar 系雄性ラットの視床下部外側野に逆行性トレーサーの Fluoro-Gold (FG) を投与後、脳組織を取り出し、ドパミン神経のマーカーである tyrosine hydroxylase (TH) との二重染色によりドパミン神経の細胞体の存在部位を同定した。

(3) 摂餌量の測定

ICR 系雄性マウスを用い、ペントバルビタール麻酔下で両側の視床下部外側野にガイドカニューレを植立し、約3日後に実験を行った。16時間の絶食後、ガイドカニューレを通じてドパミン受容体関連薬物 [SKF 38393 (D₁ 受容体作動薬)、quinpirole (D₂ 受容体作動薬)、SCH 23390 (D₁ 受容体拮抗薬)、1-sulpiride (D₂ 受容体拮抗薬)] を投与し、摂餌量を1時間ごとに4時間計測した。

(4) 視床下部における神経ペプチドの

mRNA 量の測定

ICR 系雄性マウスを用い、ドパミン受容体関連薬物を投与した 1 時間後に視床下部を摘出した。RNA を抽出した後に逆転写により DNA を作成し、神経ペプチド [neuropeptide Y (NPY), agouti-related peptide (AgRP), α -melanocyte stimulating hormone (α -MSH), orexin, melanin-concentrating hormone (MCH)] の mRNA 発現量を PCR 法にて測定した。

本実験は、星薬科大学動物実験指針に従い、星薬科大学動物実験委員会の承認を得た上で、動物に対する倫理面を十分に考慮して行った。

4. 研究成果

(1) 摂食による視床下部外側野のドパミン量の変化

摂食による視床下部外側野のドパミン量の変化について検討した結果、マウスに摂餌させることにより視床下部外側野のドパミン量は有意に増加した (図 1)。また、マウスに glucose を投与した際にも視床下部外側野のドパミン量は有意に増加した。

これらの結果から、摂食により視床下部外側野に投射するドパミン神経は活性化することが明らかになった。また、この増加は摂食に伴う血糖値の増加により引き起こされる可能性が示唆された。

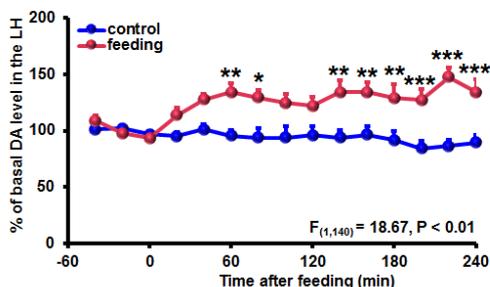


図 1 摂餌による視床下部外側野のドパミン量の変化

(2) 視床下部外側野へ投射するドパミン神経の同定およびドパミン D₁ および D₂ 受容体の存在の確認

視床下部外側野に逆行性トレーサーであ

る FG を投与したところ、FG 陽性細胞は腹側被蓋野ならびに黒質緻密部に多数認められた。また、ドパミン合成の律速酵素である TH に対する抗体を用いて染色したところ、腹側被蓋野ならびに黒質緻密部における FG 陽性細胞の約半数が TH 陽性を示した。

さらに、ドパミン D₁ または D₂ 受容体に対する抗体を用いた免疫組織学的染色法により、視床下部外側野にドパミン D₁ および D₂ 受容体が存在することが示された。

これらの結果から、腹側被蓋野ならびに黒質緻密部から視床下部外側野へドパミン神経が投射し、視床下部外側野にはドパミン D₁ および D₂ 受容体が存在することが明らかになった。

(3) 視床下部外側野のドパミン D₁ および D₂ 受容体による摂食調節

視床下部外側野のドパミン受容体の摂食調節における役割について検討した。ドパミン D₁ 受容体アゴニストの SKF 38393 を両側の視床下部外側野へ投与することにより摂餌量は有意に減少した (図 2 左)。一方、ドパミン D₁ 受容体アンタゴニストの SCH 23390 を視床下部外側野へ投与した場合には摂餌量は変化しなかった。また、SKF 38393 の視床下部外側野への投与による摂餌量の減少は、SCH 23390 を併用することにより拮抗された。同様に、両側の視床下部外側野にドパミン D₂ 受容体アゴニストの quinpirole を投与すると摂餌量は有意に減少し (図 2 右)、この効果はドパミン D₂ 受容体アンタゴニストの l-sulpiride を併用することにより拮抗された。一方、l-sulpiride を単独で視床下部外側野に投与した場合には、摂餌量に有意な変化は認められなかった。

以上の結果から、視床下部外側野のドパミン D₁ および D₂ 受容体は、摂食行動を抑制的に制御することが示唆された。

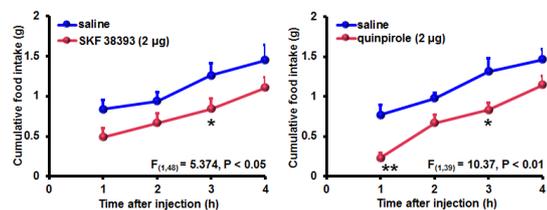


図 2 視床下部外側野へのドパミン D₁ 受容体作動薬 (左) および D₂ 受容体作動薬 (右) 投与による摂餌量の変化

(4) 視床下部外側野のドパミン D₁ および D₂

受容体を介した摂食調節における神経ペプチドの関与

ドパミン D₁ および D₂ 受容体の刺激による摂食抑制作用に視床下部のペプチド神経が関与するか明らかにする目的で、摂食行動を促進的に調節する NPY、AgRP、orexin、MCH ならびに摂食行動を抑制的に調節する α -MSH の mRNA 発現量がドパミン受容体関連薬の投与により変化するか検討した。SKF 38393 を投与し、視床下部における各神経ペプチドの mRNA 発現量を測定した結果、NPY および AgRP の mRNA 発現量は有意に減少したが、orexin の前駆体である preproorexin、MCH の前駆体である proMCH および α -MSH の前駆体である POMC の mRNA 発現量に変化は認められなかった。一方、quinpirole を投与した場合には、preproorexin の mRNA 量は減少したが、NPY、AgRP、proMCH および POMC の mRNA 発現量は変化しなかった。

以上の結果より、視床下部のドパミン D₁ 受容体は AgRP/NPY 神経を抑制することで摂食抑制作用を示し、ドパミン D₂ 受容体は orexin 神経を抑制することで摂食抑制作用を示すことが示唆された。

以上の本研究から、腹側被蓋野や黒質緻密部から視床下部外側野へ投射するドパミン神経は、摂食によって活性化し、ドパミン D₁ および D₂ 受容体を刺激することで摂食行動を終了させることが示唆された。また、ドパミン D₁ 受容体は AgRP/NPY 神経を介して、ドパミン D₂ 受容体は orexin 神経を介して摂食行動を抑制的に制御することが示唆された。

中枢のドパミン神経による摂食調節に関して、中脳辺縁系ドパミン神経が食物の嗜好性に関与することは知られていたが、本研究によって、腹側被蓋野や黒質緻密部から視床下部外側野へ投射するドパミン神経が摂食調節において重要な役割を果たすことを初めて明らかにした。

これまで数多くの摂食抑制薬が開発され、その多くはモノアミン神経を活性化するものだが、ほとんどが副作用等を理由に開発が中止されてきた。その原因の一つは、古くからモノアミン活性化薬に摂食抑制作用があることは経験的に知られていたが、その機序については明らかでないためであると考えられる。本研究のような研究成果の集積により中枢による摂食調節機構が明らかになれ

ば、これまで開発されてきた治療薬の副作用を回避し、治療効果を高めることが出来る。さらには、現在世界的な問題となっている肥満の改善に繋がる新たな治療戦略を提案できるものと期待する。

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2件)

Ardianto C, Yonemochi N, Yamamoto S, Yang L, Takenoya F, Shioda S, Nagase H, Ikeda H, Kamei J: Opioid systems in the lateral hypothalamus regulate feeding behavior through orexin and GABA neurons. *Neuroscience* 査読有 320, 183-193 (2016) DOI: 10.1016/j.neuroscience.2016.02.002.

Ikeda H, Ardianto C, Yonemochi N, Yang L, Ohashi T, Ikegami M, Nagase H, Kamei J: Inhibition of opioid systems in the hypothalamus as well as the mesolimbic area suppresses feeding behavior of mice. *Neuroscience* 査読有 311, 9-21 (2015) DOI: 10.1016/j.neuroscience.2015.10.002.

[学会発表](計7件)

Hiroko Ikeda, Chrismawan Ardianto, Naomi Yonemochi, Shogo Yamamoto, Lizhe Yang, Fumiko Takenoya, Seiji Shioda, Hiroshi Nagase, Junzo Kamei. Hypothalamic opioid receptors control feeding behavior through orexin and GABA Neurons. CINP 2016 (2016年7月3-5日, 韓国・ソウル)

Naomi Yonemochi, Hiroko Ikeda, Chrismawan Ardianto, Shogo Yamamoto, Junzo Kamei. Dopaminergic functions suppress feeding behavior through neuropeptides in the hypothalamus. CINP 2016 (2016年7月3-5日, 韓国・ソウル)

池田 弘子, Chrismawan Ardianto, 米持奈央美, 亀井淳三. 摂食調節における中枢オピオイド受容体の役割. 第46回日

本神経精神薬理学会(2016年7月2-3日,
韓国・ソウル)

池田 弘子．視床下部ドーパミン神経による摂食調節機構．第1回食欲・食嗜好の分子・神経基盤研究会(2016年6月17-18日,岡崎)

米持奈央美, 池田弘子, Chrismawan Ardianto, 山本章午, 亀井淳三．視床下部外側野のドーパミン機能は摂食行動を調節する．第89回日本薬理学会年会(2016年3月8-10日,横浜)

宮澤大慈, 池田弘子, Chrismawan Ardianto, 米持奈央美, 亀井淳三．摂食行動における視床下部外側野 GABA_A 受容体の役割．第89回日本薬理学会年会(2016年3月8-10日,横浜)

米持奈央美, 池田弘子, Chrismawan Ardianto, 楊立哲, 池上めぐみ, 亀井淳三．視床下部外側野ドーパミン神経の摂食調節への関与．第130回日本薬理学会関東部会(2014年7月5日,東京)

6．研究組織

(1)研究代表者

池田 弘子 (IKEDA, Hiroko)

星薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：70297844