

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：37116

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2015～2016

課題番号：15H06803

研究課題名(和文) nesfatin-1/NucB2の摂食および飲水行動における脳内機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the central mechanism of nesfatin-1/NucB2 on feeding and drinking regulation

研究代表者

吉村 充弘 (Yoshimura, Mitsuhiro)

産業医科大学・医学部・産業医学基礎研究医員

研究者番号：00464462

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：新規摂食抑制ペプチドとして発見されたNesfatin-1/NucB2は、体液量調節にも重要な役割を果たすことが示唆されているが、その脳内分子基盤は未解明である。我々は、ラットに様々な摂食抑制物質を腹腔内投与した際に、摂食量が有意に低下すること、および中枢神経系におけるnesfatin-1/NucB2ニューロンが活性化することを見出した。その摂食抑制効果はnesfatin-1/NucB2アンチセンスの脳室内前投与によって有意に減弱したが飲水量には影響を与えなかった。これらは、中枢神経系におけるnesfatin-1/NucB2が摂食調節に密接に関連することを示唆する。

研究成果の概要(英文)：Nesfatin-1/NucB2, identified as a satiety molecule, has also important roles in body fluid regulation, however, its central molecular basis is unveiled. Here, we administered diverse anorexigenic molecule by intraperitoneally to rats, which resulted in decreasing food intake and activation of nesfatin-1/NucB2 neurons in the central nervous system. The decreased food intake induced by intraperitoneal injection of anorexigenic molecules were significantly attenuated by intracerebroventricular pre-treatment with nesfatin-1/NucB2-antisense, without affecting water intake. These results indicate that central nesfatin-1/NucB2 is closely related to feeding regulation.

研究分野：神経内分泌

キーワード：nesfatin-1/NucB2 摂食行動 飲水行動 中枢神経 ラット

1. 研究開始当初の背景

食生活を中心とした生活習慣の欧米化や不夜城とも言われる 24 時間社会の到来により、カロリーや塩分の過剰摂取、運動不足や生活リズムの乱れ、過度のストレスなどが現代人の健康を脅かしている。“メタボリック症候群”という概念が浸透したにもかかわらず、肥満症、高血圧症、糖尿病などの患者は増加の一途であり、深刻な社会問題となっている。近年、レプチンの発見を契機として様々な摂食関連ペプチドが発見され、肥満症治療薬開発のブレイクスルーになり得ると考えられていたが、未だに疾患の本質的なメカニズムの解明と創薬ならびに治療法の確立には至っていない。

多くの種において、飲水と摂食の間には密接な関係がある。摂食調節機構は、視床下部に局在する満腹中枢と摂食中枢という 2 中枢説を基盤に発展し、研究が精力的に行われている一方、飲水調節機構はあまり解明されていない。強力な摂食促進ペプチドのグレリンが飲水抑制作用を持つことが明らかとなり、また、新規摂食促進ペプチドの nesfatin-1/NucB2 (Oh-I *et al.*, *Nature* 2006) も飲水抑制作用を持つことが報告された。我々は nesfatin-1/NucB2 が脱水誘発性摂食抑制に関わる鍵分子である可能性を見いだした (Yoshimura *et al.*, *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2014)。摂食では反対の作用をもつ 2 つのペプチドが飲水行動においては同じ作用をもつことは、非常にユニークである。この 2 つのペプチドを比較しながら、様々な摂食抑制モデルを用いて、摂食および飲水における nesfatin-1/NucB2 の脳内分子基盤の解明が期待される。

2. 研究の目的

摂食抑制ペプチドとして知られる nesfatin-1/NucB2 の、摂食調節および飲水調節における脳内分子基盤を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

成熟雄性 Wistar 系ラットを用いた。

《方法 1》

コレシストキニン-8 (CCK-8)、レプチン、グルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) を腹腔内投与した際の摂食量、飲水量、および中枢神経系 nesfatin-1/NucB2 ニューロンの活性化を、免疫組織化学的染色法 (IHC 法) を用いて検討した。また、これらのペプチド投与前に nesfatin-1/NucB2 アンチセンスの脳室内投与を行った際の飲水量および摂食量変化を観察した。

《方法 2》

抗癌剤のシスプラチンを腹腔内投与し

た際の、摂食量、飲水量、および中枢神経系 nesfatin-1/NucB2 ニューロンの活性化を、IHC 法を用いて検討した。また、シスプラチン投与前に nesfatin-1/NucB2 アンチセンスの脳室内投与を行った際の飲水量および摂食量変化を観察した。

《方法 3》

摂食促進作用をもつグレリンの脳室内投与後の摂食量、飲水量、および Fos タンパク発現を、IHC 法を用いて検討した。また、グレリン脳室内投与前にオレキシン受容体拮抗薬を脳室内投与した場合の摂食量および飲水量変化を観察した。

4. 研究成果

《結果 1》

コレシストキニン-8 (CCK-8)、レプチン、グルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) を腹腔内投与後、摂食量は少なくとも 1 時間にわたり有意に低下した (Fig. 1)。飲水量に有意差を認めなかった。また、投与 90 分後の中枢神経系における nesfatin-1/NucB2 ニューロンは有意に活性化した。これらのペプチドによる摂食抑制効果は、nesfatin-1/NucB2 アンチセンスの脳室内投与で有意に減弱したが、飲水量に影響しなかった (Fig. 2)。

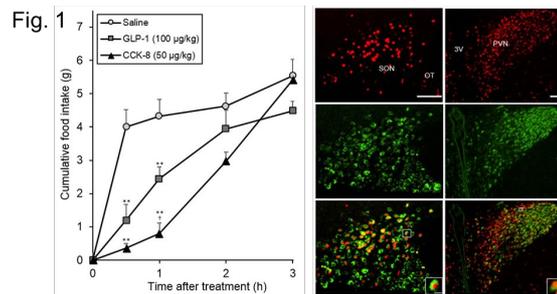
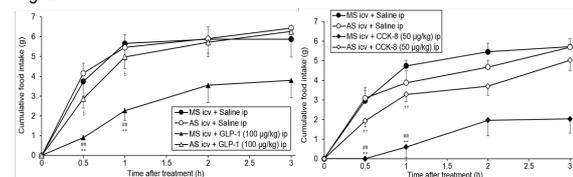


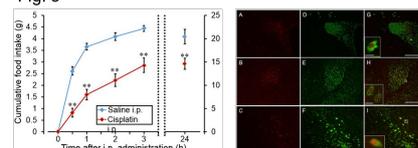
Fig. 1

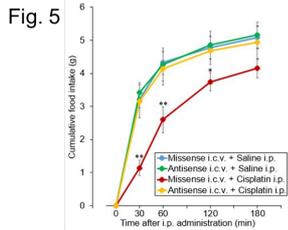
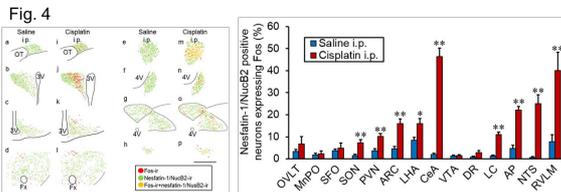


《結果 2》

抗癌剤のシスプラチンを腹腔内投与後、有意な摂食量低下を認めた。飲水量には有意差を認めなかった。また、シスプラチン投与 90 分後の中枢神経系における nesfatin-1/NucB2 ニューロンは有意に活性化した (Fig. 3 および 4)。シスプラチンによる摂食抑制効果は、nesfatin-1/NucB2 アンチセンスの脳室内前投与により有意に減弱したが、飲水量に影響しなかった (Fig. 5)。

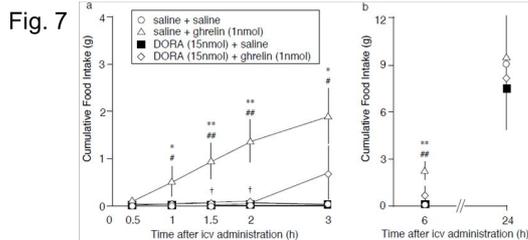
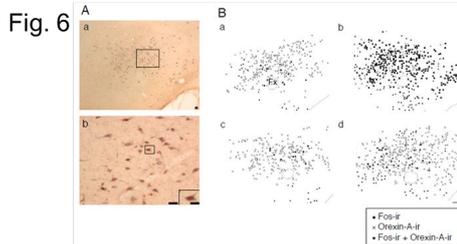
Fig. 3





《結果 3》

グレリンの脳室内投与後、摂食量は有意に増加した。また、グレリン脳室内投与 90 分後の中枢神経系における神経細胞は有意に活性化した (Fig. 6)。グレリン脳室内投与前にオレキシン受容体拮抗薬を脳室内投与した場合、グレリンの摂食亢進作用は有意に減弱したが、飲水量に影響を与えなかった (Fig. 7)。



《考察》

現時点で中枢神経系における nesfatin-1/NucB2 やグレリンの飲水行動における明確な役割の解明に至っていない。しかし、以上の研究成果は、中枢神経系における nesfatin-1/NucB2、グレリン、およびオレキシンが摂食調節に密接に関連すること、また末梢性の摂食抑制物質の作用は中枢神経系の nesfatin-1/NucB2 活性化を介していることを示唆する。

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 3 件)

1. So M, Hashimoto H, Saito R, Yamamoto Y, Motojima Y, Ueno H, Sonoda S, Yoshimura M, Maruyama T, Kusuhara K,

Ueta Y.

Inhibition of ghrelin-induced feeding in rats by pretreatment with a novel dual orexin receptor antagonist. *J Physiol Sci.* doi: 10.1007/s12576-016-0517-5. [Epub ahead of print] PMID: 28054308 (2017) (査読有)

2. Saito R, So M, Motojima Y, Matsuura T, Yoshimura M, Hashimoto H, Yamamoto Y, Kusuhara K, Ueta Y.

Activation of Nesfatin-1-Containing Neurones in the Hypothalamus and Brainstem by Peripheral Administration of Anorectic Hormones and Suppression of Feeding via Central Nesfatin-1 in Rats. *J Neuroendocrinol.* 28(9). doi: 10.1111/jne.12400. PMID: 27203571 (2016) (査読有)

3. Yoshimura M, Uezono Y, and Ueta Y Anorexia in human and experimental animal models: physiological aspects related to neuropeptides. *J Physiol Sci.* 65(5):385-95. doi: 10.1007/s12576-015-0386-3. Epub 2015 Jun 30. Review. PMID: 26123258 (2015) (査読有)

〔学会発表〕(計 12 件)

1. 齋藤玲子、園田里美、上野啓通、元嶋尉士、吉村充弘、丸山 崇、橋本弘史、山本幸代、楠原浩一、上田陽一
オキシトシン、オキシトシンアナログの末梢投与およびキスペプチンの中枢内投与による視床下部・延髄におけるネスファチン-1含有ニューロンの活性化
2017年3月28日、第94回日本生理学会大会(浜松アクティビティコンgresセンター、静岡県浜松市)

2. Ueta Y, Yoshimura M, Sonoda S, Maruyama T, Hashimoto H, and Uezono Y. Activation of central nesfatin-1 neurons after intraperitoneal administration of cisplatin in rats. 2016年10月8日、The 75th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association(パシフィコ横浜、神奈川県横浜市)

3. 齋藤玲子、宗まりこ、上野啓通、元嶋尉士、松浦孝紀、吉村充弘、橋本弘史、山本幸代、楠原浩一、上田陽一
CCK-8, GLP-1 および Leptin のラット末梢投与による摂食抑制作用に対するネスファチン-1 アンチセンス脳室内投与の効果
2016年4月22日、第89回日本内分泌学会学術総会(国立京都国際会館、京都府)

京都市)

4. 齋藤玲子、園田里美、上野啓通、元嶋尉士、**吉村 充弘**、丸山 崇、橋本弘史、山本幸代、楠原浩一

CCK-8、GLP-1 および Leptin のラット末梢投与による摂食抑制作用への中枢性ネスファチン-1 含有ニューロンの関与

2016年7月14日~15日、第34回内分泌代謝学サマーセミナー(ホテル夢家、福岡県糟屋郡)

5. **吉村充弘**、園田里美、元嶋尉士、丸山崇、橋本弘史、森田啓之、上田陽一

過重力負荷後のマウス視床下部摂食関連ペプチド変化における前庭破壊の影響

2016年8月5日~7日、第26回日本病態生理学会大会(金沢医科大学、石川県河北郡)

6. **吉村充弘**、園田里美、元嶋尉士、丸山崇、橋本弘史、森田啓之、上田陽一

前庭破壊後の重力環境変化による視床下部摂食関連ペプチド変化

2016年9月10日、第16回日本内分泌学会九州支部学術集会(かごしま県民交流センター、鹿児島県鹿児島市)

7. 園田里美、**吉村充弘**、元嶋尉士、丸山崇、橋本弘史、森田啓之、上田陽一

過重力負荷後のマウス視床下部摂食関連ペプチド変化における前庭破壊の影響

2016年10月7日~8日、第67回西日本生理学会(かごしま県民交流センター、鹿児島県鹿児島市)

8. **吉村充弘**、宋まりこ、將口加奈子、上野啓通、元嶋尉士、齋藤玲子、松浦孝紀、橋本弘史、上田陽一

シスプラチン末梢投与によるラット脳内 nesfatin-1 ニューロンの活性化

2015年8月29日、第15回日本内分泌学会九州支部学術集会(ホルトホール大分、大分県大分市)

9. 齋藤玲子、宋まりこ、元嶋尉士、松浦孝紀、**吉村充弘**、橋本弘史、山本幸代、楠原浩一、上田陽一

ラット視床下部・延髄ネスファチン-1 含有ニューロンの末梢性摂食抑制ペプチド作用への関与

2015年8月29日、第15回日本内分泌学会九州支部学術集会(ホルトホール大分、大分県大分市)

10. **吉村充弘**、宋まりこ、將口加奈子、上野啓通、元嶋尉士、齋藤玲子、松浦孝紀、橋本弘史、上田陽一

シスプラチン末梢投与によるラット脳内 nesfatin-1 ニューロンの活性化

2015年9月18日~9月19日、第42回日本神経内分泌学会第23回日本行動神経内分泌研究会合同学術集会(仙台市戦災復興記念館、宮城県仙台市)

11. 橋本弘史、**吉村充弘**、宋まりこ、上田陽一

シスプラチン末梢投与による脳内ネスファチン-1 への効果の検討

2015年10月3日、第33回産業医科大学学会第35回産業医学推進研究会九州地方会(産業医科大学、福岡県北九州市)

12. **吉村充弘**、橋本弘史、上田陽一

脳内モノアミン系に対するネスファチン-1 の関与

2015年12月4日、第43回自律神経生理研究会(日本光電(株)本社研修センター、東京都新宿区)

6. 研究組織

(1)研究代表者

吉村 充弘 (YOSHIMURA, Mitsuhiro)

産業医科大学・医学部・産業医学基礎研究医員

研究者番号: 00464462

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

なし