

平成 30 年 5 月 18 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09395

研究課題名(和文) 幼少期エネルギー環境に適応した室傍核オキシトシン神経回路網の発達・構築機構の解明

研究課題名(英文) The study of development of oxytocinergic neural circuit responding to energy status in childhood

研究代表者

前島 裕子 (Maejima, Yuko)

福島県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：40438669

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：幼若期ラットの体重あたりの摂取エネルギー量は成体ラットの体重あたりの摂取エネルギー量を上回る。本研究では成体ラットと幼若ラットの摂食調節機構を生理学的、解剖学的視点より比較することで幼若期のいわゆる「過食」のメカニズムを解明することを目的とした。その結果、3週齢のラットには、高脂肪食への嗜好性はすでに確立されており、幼若期の動物は食事の内容にかかわらず、食事自体が報酬であり、摂取可能な最大のエネルギー量を摂取していると考えられた。報酬系神経回路において3週齢でGABAニューロンの発現が未発達であることを明らかにした。このGABAの未発達性が幼少期の成長を担うと考え、更なる研究を続けている。

研究成果の概要(英文)：The energy intake (EI) per body weight (BW) (EI/BW) in juvenile rats is known to be significantly higher than that of adult rats. The aim of this study is to clarify the mechanisms of hyperphagia in juvenile rat by comparing with that of adult rats. This study revealed that juvenile rat may take energy up to the maximum level, regardless of the contents of meal. In other words, reward neural systems may be activated excessively in juvenile rats, compared with adult rats. In addition, we found that the low level of GABA expression in reward neural system in juvenile rats. We considered that GABA neurons in reward neural circuit contribute to hyperphagia, which is required for growth in childhood.

研究分野：神経内分泌学

キーワード：成長 過食 幼若期 報酬系

1. 研究開始当初の背景

肥満は糖尿病、脂質代謝異常、高血圧の原因となり、動脈硬化疾患のリスクを高める他、近年では癌の発症リスクも高めることも報告されている。近年肥満者人口は世界中で増加しており、欧米では小児肥満率も成人の肥満率を反映する形で増加し続けている (Ogden et al. 2002, Jackson-Leach & Lobstein. 2006, Jotangia et al. 2006)。幼少期の肥満は成人後の肥満に直結することも報告されており (Whitaker et al. 1997)、発達期の過食・肥満を予防することは、成人後の肥満を予防することに大きく貢献すると考えられる。

摂食・エネルギー制御を司る重要な神経経路として弓状核 (ARC) 室傍核 (PVN) の投射経路が知られている。特に ARC には摂食亢進に働く (Neuropeptide Y/Agouti related peptide : NPY/AgRP) ニューロンと抑制作用を示す (Proopiomelanocortin/Cocaine and Amphetamine-Regulated Transcript : POMC/CART) ニューロンが局在している。これらのニューロンは PVN への投射を介して摂食制御を行うことが知られている。

出生直後の摂食・エネルギー制御神経の発達についてはすでにいくつかの論文が存在し、ARC-PVN 神経経路の発達には、出生直後の ARC におけるレプチンシグナルの重要性が報告されている (Bouret et al. Science 2004)。さらに近年、10 週齢マウスへの高脂肪食 (High Fat Diet : HFD) 負荷により誘発される ARC 近傍の正中隆起脳室側の神経新生が肥満誘発に深く関与するという報告もある (Lee et al. Nat Neurosci 2012)。しかしこの Lee らの報告では、5 週齢のマウスに HFD を与えても新生するニューロンの数には影響していないとされている。つまりエネルギーの感受領域は ARC である可能性を示唆している。

摂食調節機序に関し、我々は、ラットにおいて離乳直後 (3 週齢) の幼若期における体重に対する摂取エネルギー量が、年齢依存的に減少し、性成熟後のラット (8 週齢) の体重に対する摂取エネルギー量が約 2 倍になっていることを明らかにしている。視床下部摂食調節神経回路はマウスにおいて 3 週齢まで未発達であることが報告されている (Bouret & Simerly. Endocrinology 2004)。また、摂食調節に重要な視床下部弓状核 (ARC) のニューロンは、年齢依存的に、数、特徴が変化することも報告されている (Gruenewald et al. Endocrinology 1994, Yang et al. Neuron 2012)。これらの報告からも、摂食調節神経回路は年齢依存的に変化するものであることが推測できる。

2. 研究の目的

世界の過体重および肥満者人口は 40 歳を超えると男女ともに 40% と増加する。年齢依存的な摂食調節機構の変化を解明することは、年齢依存的に増加する肥満を抑制し、健康寿命を延ばすという点で今後非常に重要な課題である。

前述した幼若期ラットの摂取エネルギー量が成体ラットの摂取エネルギー量を上回る現象は、一般的な哺乳類の成長期として当然の現象であると考えられるが、本研究では成体ラットと幼若ラットの摂食調節機構を生理学的、解剖学的視点より比較することで幼若期のいわゆる「過食」のメカニズムを解明することを目的とした。

3. 研究の方法

動物：実験には雄 Wistar rat を、暗期 12 時間明期日 12 時間の光条件で飼育し、餌、水は自由摂取とした。実験はすべて福島県立医大実験動物委員会の承認のもと行った。

年齢別摂食量測定：3 週齢ラットおよび 8 週齢ラットに普通食 (CE7, Clea) または高脂肪食 (HFD32, Clea) を与え、3 日おきに 66 日間にわたり摂食量および体重を測定した。

体脂肪量、糖代謝の測定：66 日間にわたり、CE7 または HFD32 を与えたラットにおいてジエチルエーテルによる麻酔下で、小動物用 CT スキャン (La Theta LCT-200; Hitachi Aloka Medical) を用いて、体脂肪、皮下脂肪、内臓脂肪を測定した。またこれらの動物において、グルコース負荷試験 (グルコース腹腔内投与：2 g/kg)、インスリン負荷試験 (インスリン腹腔内投与：1 IU/kg) を行った。

報酬系投射解析：3 週齢および 8 週齢のラットの側坐核に逆行性トレーサー (CTB) を投与し 7 日後に灌流固定を行い、その投射先と知られる腹側被蓋野の CTB 陽性細胞の数を比較した。

報酬系ニューロン解析：腹側被蓋野のドーパミンニューロン (TH 陽性細胞ニューロン) GABA (GAD 陽性ニューロン) 数、分布を 3 週齢と 8 週齢で比較した。

4. 研究成果

3 週齢から普通食を与えたラットの摂取カロリー、体重を測定した結果 Fig.1 のように体重あたりの摂取カロリーは、年齢依存的に減少し、3 週齢の離乳直後と性成熟後 (8 週齢) を比較すると 3 週齢の摂取カロリー量は 8 週齢の約 2 倍になっていることが明らかになった。成長の著しい時期ゆえの当然の現象と考えられるが、ここには幼若期と性成熟後では大きなエネルギー摂取機構の違いがあると考えられる。

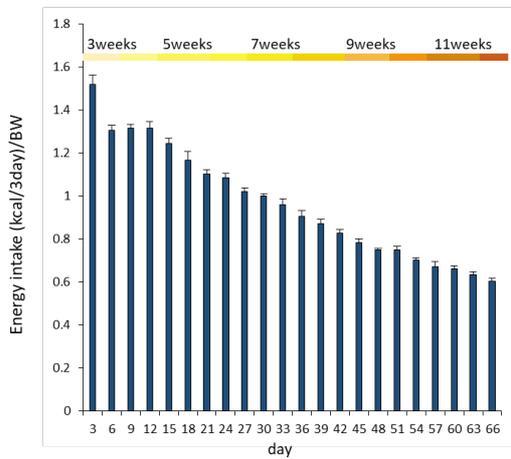


Fig.1 年齢別体重当たりの摂取カロリー

そこで、高脂肪食に対する反応性の違いを調べるために、8週齢と3週齢のラットで高脂肪食負荷後66日の比較的長期にわたり、摂取エネルギー量と、体重を比較した。8週齢ラットにおいては高脂肪食負荷開始直後から有意な体重増加量と摂取エネルギー量の増加が見られた。一方3週齢のラットにおいては、測定期間中普通食を与えた対照群と比較して体重増加量および摂取エネルギー量に差がなかった。この結果は、幼若ラットは、8週齢ラットに見られた高脂肪食に対する嗜好性がなく、摂取エネルギーが対照群とほぼ同じになることが推測され、摂取エネルギーに変化がないので、体重増加量も対照群と変わらないことが一つの仮説として考えられた。

66日間の長期にわたり、8週齢、3週齢で高脂肪食を開始したラットの体脂肪をCTスキャンで調べた。8週齢で高脂肪食を開始したラットは、予想通り、内臓脂肪、皮下脂肪は対照群の1.7-1.8倍になっていた。一方、高脂肪食を与えても、エネルギー摂取量、体重増加量に変化がなかった3週齢高脂肪開始ラットでも、8週齢で高脂肪食を開始したラットと同様に、内臓脂肪、皮下脂肪が対照群の1.6-1.7倍に増加していた。さらに糖代謝を調べたところ、66日間の高脂肪食負荷は8週齢動物であると、若干の耐糖能の悪化が見られる程度であり、インスリン感受性には変化がなかったが、3週齢で高脂肪食負荷を開始したラットにおいては、耐糖能および、インスリン感受性の低下の両方が見られた。このことは幼若期で高脂肪を開始したラットは、体重に変化がないが、内臓脂肪、皮下脂肪の蓄積が起こり、糖代謝障害も惹起されている、つまり「隠れ肥満」であったと考えられる。このことから、摂取カロリーおよび体重が平均と変わらなくても、幼若期の食事内容次第では、幼少期およびそれ以降において隠れ肥満、糖代謝障害を引き起こす可能性を示唆している。

3週齢のラットが高脂肪食を与えても一日当たりの摂取エネルギーが増加しないのかという疑問に対し、高脂肪食への嗜好性を調べるために、明期の2時間のみ、高脂肪食を

与えるという実験を4日間にわたり連続して行った。その結果、普通食を与えた3週齢のラットと比較して、高脂肪食を与えたラットの摂取エネルギー量は、3日目に最大となり、対照群の約5倍であった。このことは幼若ラットでも高脂肪食に嗜好性を持つことを意味している。

8週齢ラットでも、3週齢ラットでも、高脂肪食に対し嗜好性を持つことが確かめられたが、一日当たりのエネルギー摂取量が3週齢ラットでは対照群と等しくなる。この矛盾を調べるために、8週齢、3週齢のラットに高脂肪食負荷開始6日間をさらに詳細に調べた。8週齢ラットは、高脂肪食負荷開始1日目からエネルギー摂取量は対照群の約1.3倍と有意に増加し、それに伴い体重増加量も3日目から有意に増加した。一方3週齢のラットは、やはり高脂肪食負荷6日間摂取エネルギー量も、体重増加量も対照群と変化がなかった。

そこでこれらの一日当たりのエネルギー摂取量を体重当たりに換算し、8週齢と3週齢で比較してみると、3週齢普通食群のエネルギー摂取量は8週齢普通食の約2.5倍であり、高脂肪食を与えた8週齢ラットの摂取カロリーよりも有意に上回っている。3週齢のラットでも高脂肪食には嗜好性を示すという結果より、幼若期の動物は食事の内容にかかわらず、食事自体が報酬であり、摂取可能な最大のエネルギー量を摂取しているという仮説が考えられた。つまり幼若ラットは、報酬系が過度に活動していると考えられる。

この仮説は、動物が離乳して、成長する上で非常に合理的な仮説であると考えられる。幼若期の摂食中枢神経回路は未発達であり、食欲抑制ホルモンであるレプチンが作用しにくいという報告がある(Naef et al. J. Neuroendocrinol. 2014)。しかし幼若期の報酬系の研究はほとんどない。動物において、アルコール、麻薬などの報酬・依存に関わるのは、大脳辺縁系の報酬系神経回路であり、とくに腹側被蓋野(VTA)から側坐核(NAc)に投射するドーパミンニューロンが重要な役割を果たすことが知られている(Beier et al. Neuron 2015)。そこで幼若期の報酬系と成体の報酬系の違いを調べるために、逆行性トレーサーをNAcに投与しVTAへの投射神経回路の違いから調べた。8週齢のラットでも3週齢のラットもほぼ同じNAcの領域にCTBを投与すると、VTAのCTB陽性細胞は両方の週齢のラットで見られ、1枚当たりの切片のCTB陽性細胞数を比較すると、両週齢で有意な差はなかった(Fig.2)。このことから、3週齢ラットの過度な食欲は、報酬系におけるVTA-NAcの神経投射が原因ではないことが明らかになった。しかしVTAにおけるGABAニューロン発現が3週齢のラットで弱いことが分かり、幼若期の成長のための過食がGABAにより担われているという仮説のもと更なる機能解析を継続中である。

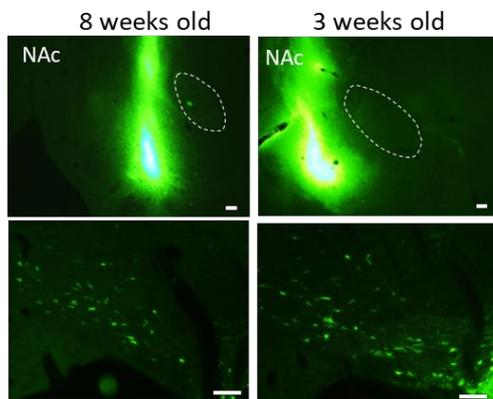


Fig.2 8週齢、3週齢における腹側被蓋野から側坐核 (NAc)への投射の比較

本研究は当初オキシトシンニューロンに目を向けて研究をすすめていたが、研究を進めるにあたり見当違いであったことが分かってきた。しかし本研究により、幼若期のエネルギー摂取メカニズムについて、大きく分けて2点重要なことが明らかになった。一つは、幼若期の高脂肪摂取が隠れ肥満、糖代謝障害を引き起こすこと、もう一つは、幼若期は報酬系が活発に働くことで、より多くのエネルギーを摂取している可能性である。「成長のための盛んな食欲」というのは、周知の事実であり、誰も疑わないが、それに対してなぜか？に対する答えは今のところ解明されていない。本研究は報酬系の未発達性という可能性としてその答えの一つ提示できたと考えられる。

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 5 件)

1. Maejima Y, Yokota S, Nishimori K, Shimomura K. The Anorexigenic Neural Pathways of Oxytocin and its Clinical Implication. Neuroendocrinology. 2018 (in press) doi: 10.1159/000489263.
2. Maejima Y, Aoyama M, Sakamoto K, Jojima T, Aso Y, Takasu K, Takenoshita S, Shimomura K. Impact of sex, fat distribution and initial body weight on oxytocin's body weight regulation. Sci Rep. 2017, 17;7(1):8599.doi:10.1038/s41598-017-09318-7.
3. Maejima Y, Takahashi S, Takasu K, Takenoshita S, Ueta Y, Shimomura K. (2017) Orexin action on oxytocin neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. Neuro Report 12;28(6):360-366.doi:10.1097/WNR.0000000000000773.
4. Maejima Y, Horita S, Kobayashi D, Aoki M, O'hashi R, Imai R, Sakamoto K, Mori M, Takasu K, Ogawa K, Takenoshita S, Zhao S, Hazama A, Shimomura K. (2017) Nesfatin-1 inhibits voltage gated K⁺ channels in pancreatic beta cells. Peptides.

95:10-15.doi:10.1016/j.peptides.2017.07.005. Maejima Y, Kumamoto K, Takenoshita S, Shimomura K. (2016) Projections from a single NUCB2/nesfatin-1 neuron in the paraventricular nucleus to different brain regions involved in feeding. Brain Struct. Funct. 221(9):4723-4731. PMID: 26639940

〔学会発表〕(計 2 件)

1. 前島 裕子 オキシトシンによる摂食制御機構とその慢性効果 第150回 日本農芸化学会東北支部 仙台 2015 (シンポジウム)
2. 前島 裕子 オキシトシンによる摂食調節メカニズムとその慢性効果 第86回日本動物学会 新潟 2015 (シンポジウム)

〔図書〕(計 2 件)

1. 前島裕子、下村健寿、神経内科 漢方薬からみたオキシトシンニューロンに対する作用、2018、88(2):169-174.
2. 前島裕子 下村健寿、BIO INDUSTRY オキシトシンによる摂食抑制メカニズムと抗肥満効果～臨床応用の可能性～ 2018、35(5)1-8.

〔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〕

ホームページ等
食欲を抑える神経回路を新たに発見 福島医科大
<https://www.j-cast.com/2016/01/07254871.html>

「愛情ホルモン」オキシトシンが脂肪燃焼
マウス実験で肥満児ほどダイエット効果

<https://www.j-cast.com/2017/09/22309011.html?p=all>

「オキシトシン」の肥満改善作用、肥満なほど効果高く - マウスを用いた実験で検証、福島県立医大ら

<https://www.carenet.com/news/general/hd/nj/44636>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

前島 裕子 (MAEJIMA YUKO)

福島県立医科大学・医学部・病態制御薬理

医学講座・准教授

研究者番号：40438669

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

下村 健寿 (SHIMOMURA KENJU)

福島県立医科大学・医学部・病態制御薬理

医学講座・教授

研究者番号：90636226

(4) 研究協力者

()