

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09405

研究課題名(和文) FGF21による食餌選択行動と脳内メカニズムの解明

研究課題名(英文) The central regulatory mechanism of FGF21 on carbohydrate preference

研究代表者

岡本 士毅 (Okamoto, Shiki)

琉球大学・医学(系)研究科(研究院)・特命講師

研究者番号：40342919

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：絶食による飢餓からの回復時に、炭水化物嗜好性が増強し、速やかに全身エネルギー状態が回復する。またヘパトカインであるFGF21が絶食時に肝臓から分泌される。本研究によって、FGF21が視床下部室傍核に存在する、炭水化物嗜好性制御CRH産生ニューロンに発現するFGF21受容体を介して直接活性化を促し、炭水化物嗜好性を惹起する事を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The activation of an AMPK in a subset of CRH-positive neurons in the paraventricular hypothalamus mediates the fasting-induced increase in high carbohydrate selection. The hepatokine, FGF21, modulates AMPK responsible CRH neurons directly. This mechanism might contribute the rapid recovery from the energy crisis in the starvation.

研究分野：神経内分泌

キーワード：FGF21 炭水化物嗜好性 AMPK

1. 研究開始当初の背景

AMP キナーゼ (AMPK) は、酵母から植物、哺乳動物に至る、ほとんどすべての細胞に発現するセリン・スレオニンキナーゼであり、細胞内エネルギーレベルの低下によって活性化し、ATP レベルを回復させる酵素として知られている。AMPK は、レプチン・アディポネクチン・レジスチン等の代謝調節ホルモン、並びに運動によって活性が変化し、骨格筋、肝臓、白色脂肪細胞などにおいて糖・脂質代謝に調節作用を営む。また視床下部の AMPK 活性は摂食行動の調節に関与する。

これまでに研究代表者は、摂食行動と代謝調節への視床下部 AMPK の関与を解明するため、レンチウイルスベクターを用いて視床下部に慢性的に選択的に持続活性型変異 AMPK (CA-AMPK) を発現させ観察したところ、高脂肪食よりも高炭水化物食 (蔗糖含有) を多く摂食していた。そこで CA-AMPK マウスの嗜好性を調べるため、同じケージ内で 2 種類の餌を同時に選択し摂食できる行動計測ケージを独自に考案し、高脂肪食と高蔗糖食を自由に選択させた時の各々の摂食量を測定した。すると、対照マウスは高脂肪食を主として摂取するのに対し、CA-AMPK マウスは高蔗糖食を多く摂取し、高炭水化物嗜好性と呈した。

そこで AMPK による嗜好性制御作用がどのような生理的条件下で機能しているかを明らかにする為に、絶食後における再摂食の効果を調べた。絶食により室傍核 (PVH) AMPK 活性は亢進することが明らかにされているが、再摂食させたマウスは、CA-AMPK マウスと同様に高蔗糖食の摂食量が有意に増加した。PVH-AMPK 活性は、絶食による全身性エネルギー減少を速やかに回復させるため、高脂肪食より高炭水化物食からの ATP 合成を促す制御機構を担うと考えられた。このような食餌嗜好性制御を担う視床下部ニューロンを探索するため、PVH に発現する各種ニューロペプチドを脳内に投与し、嗜好性変化を測定した所、ストレス応答性ホルモンとされるコルチコトロピン放出ホルモン (CRH) 投与でのみ、炭水化物嗜好性を増強させた。そこで CRH Cre マウスを用いて、CRH ニューロン特異的に CA-AMPK を発現させると、炭水化物嗜好性の亢進を観察した。これらの結果から、AMPK 反応性 CRH ニューロンが食餌嗜好性制御における主要制御因子である事を明確に示す事が出来た (Cell Reports 2018)。

本研究では、飢餓時に末梢組織のエネルギー状態を脳へ伝える液性飢餓シグナルの一つとして、絶食時に肝臓から分泌される FGF21 に着目し、飢餓からの回復時におけるヘパトカインシグナルの寄与を研究するに至った。

FGF21 は絶食時に肝臓で合成が高まり、末梢組織におけるエネルギー飢餓情報を中枢に伝達する液性メディエーターと考えられる。外因性 FGF21 投与により、甘み感受性を低下させ、肥満状態に於いても砂糖摂取量を低下

させる報告が 2 報連続して発表 (von Holstein-Rathlou et al. Cell Metab. 2016; Talukdar et al. Cell Metab. 2016,) され、肥満者の糖分過剰摂取を防ぐ治療応用として期待されているが、同時に肥満時に生じる脂肪肝においても合成が高まる事も報告されており、FGF21 の生理的機能解明が注目されている。

2. 研究の目的

マウス視床下部室傍核 (PVH) において、レンチウイルスベクターを用いて AMP キナーゼ (AMPK) を活性化させると、PVH での脂肪酸酸化が亢進し、脂肪食ではなく炭水化物食選択行動が高まることを見出した。また絶食後の再摂食時にも炭水化物食選択行動が亢進し、PVH における AMPK に対する shRNA で遮断された。さらに PVH の一部のコルチコトロピン放出ホルモン (CRH) 含有ニューロンが食餌選択行動調節ニューロンであることを証明した (H18-H23 若手 (B)、Cell Reports 2018)。CRH は古くからストレス応答性ホルモンとして位置づけられ、グルココルチコイド分泌を促す。社会的敗北ストレス負荷後の食餌選択行動を測定したところ、絶食時同様に AMPK を介して炭水化物食選択行動が増加する事を確認した (H24-26 基盤 C)。また絶食時には肝臓から FGF21 が分泌され、視床下部 CRH を介して全身エネルギー代謝や日内行動を調節するという知見が報告された。そこで本研究では、全身エネルギー飢餓シグナルと中枢へ伝えるヘパトカイン、FGF21 による食餌選択行動の調節と脳内神経ネットワークの解明を目的とする。

3. 研究の方法

肝臓から視床下部 PVH への FGF21 シグナルを遮断するため、FGF21 受容体を構成する FGFR1c と klotho に対する shRNA を発現するレンチウイルスベクターを各々 PVH に感染させ、絶食後の炭水化物選択行動亢進に及ぼす影響を調べる。さらに CRH Cre マウスを用いて、CRH ニューロン選択的に FGFR1c と klotho の発現を抑制し、同様の検討を行う。FGFR1c と klotho が共存する SCN の調節作用を調べるため、SCN における FGFR1c 及び klotho の発現を shRNA を用いて抑制し、絶食後の食餌選択行動を測定する。更に、FGF21 以外にも、CRH ニューロンの AMPK を制御し、食餌選択行動を調節する神経ネットワークが存在すると思われる。そこで、CRH ニューロンへ入力する神経ネットワークを明らかにするため、CRH Cre マウスに狂犬病ウイルスベクターを接種して、CRH ニューロン直上のニューロンの細胞体をマーキングし、免疫組織化学的に細胞種を同定する。同様の方法により、同定したニューロンが SCN ニューロンと回路を形成しているか否かを調べる。

4. 研究成果

絶食により全身エネルギーが低下すると、再摂食時には炭水化物食を積極的に選択摂取する本能行動を司る制御ニューロンを見出した (Cell Reports, 2018)。この炭水化物嗜好性制御ニューロンを活性化させる末梢組織からの刺激因子として、ヘパトカインであるFGF21に着目し、FGF21シグナルの視床下部内作用点と脳内ネットワーク解明を行った。

FGF21受容体であるFGFR1cに対するshRNAをコードするウイルスベクターをCRH CreマウスPVHに感染させ、PVHに含まれるCRHニューロン特異的に発現させFGFR1c mRNA 発現を抑制した。このCRHニューロンのみでFGFR1c受容体発現を抑制したマウスを絶食すると、再摂食時には炭水化物ではなく脂肪嗜好性を示した。この結果は、PVH-CRHニューロン自体が、絶食時に肝臓で産生され血中濃度が増加するFGF21を直接感受し、CRHニューロン活性化に寄与していることを示唆する。またSCNでのFGFR1c受容体発現を抑制すると、PVH同様に絶食時に高まる炭水化物嗜好性が完全に遮断された。これらの結果から、PVH及びSCNともに絶食時におけるFGF21の作用部位としての機能的寄与が示された。

しかし狂犬病ウイルスを用いたCRHニューロンの上流探索を行った報告 (Kondoh et al. Nature, 2016)) がなされ、注目していたSCNからPVHへの入力経路は特に主要経路では無い事が明らかになった為、実験計画を一部変更した。

嗜好性制御ニューロンであるCRHニューロンへの入力経路探索ではなく、嗜好性制御コマンドニューロンとしてのAMPK反応性CRHニューロン自体の特性の解明を進めた。

loxP-tdTomato配列を有するウイルスベクターをPVHに感染させたCRH CreマウスのPVHを採取・単離した後、炭水化物嗜好性に寄与するFGF21受容体を発現するCRHニューロンをcell sortingにて回収したところ、PVHの0.1%未満の細胞集団100細胞程度を回収しcDNA アレイ解析を実施した。炭水化物嗜好性制御に寄与するFGFR1c陽性細胞では、解糖系関連酵素の発現減少といくつかの脂質代謝に関連する特徴的な遺伝子の発現を認めた。さらに様々な匂い受容体の発現も認めており、引き続きこれらの発現変動の確認と解析を行っている。

炭水化物嗜好性制御 CRH ニューロンは、絶食時に非常に敏感に AMPK のリン酸化が観察されるが、解糖系酵素の活性不全により、飢餓による低血糖に応じて、ヘパトカインである FGF21 が分泌され、AMPK が鋭敏に活性化し、適切な炭水化物摂取を促す、精妙なエネルギー調節機構の一旦を解明できたと考えられた。この研究結果は論文投稿準備中である。

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 1 件; 全て査読あり)
Okamoto S, Sato T, Tateyama M, Kageyama H, Maejima Y, Nakata M, Hirako S, Matsuo T, Kyaw S, Shiuchi T, Toda C, Sedbazar U, Saito K, Asgar NF, Zhang B, Yokota S, Kobayashi K, Fougelle F, Ferré P, Nakazato M, Masuzaki H, Shioda S, Yada T, Kahn BB, Minokoshi Y. Activation of AMPK-Regulated CRH Neurons in the PVH is Sufficient and Necessary to Induce Dietary Preference for Carbohydrate over Fat. Cell Reports 22:706-721, 2018.

〔学会発表〕(計 20 件)

- 1) Shiki Okamoto, Hiroaki Masuzaki, Yasuhiko Minokoshi 「A Subset of CRH Neurons in the Paraventricular Hypothalamus Regulates Dietary Preference for Carbohydrate over Fat via AMPK」2017 年度生命科学系学会合同年次大会、2017
- 2) Shiki Okamoto, Yasuhiko Minokoshi, Hiroaki Masuzaki 「AMPK in the paraventricular hypothalamic nucleus regulates food selection behavior between fat and carbohydrate diet」OIST-Univ, Ryukyus Joint Symposium, 2017
- 3) 岡本 土毅、與那嶺 正人、Jasmine Millman、難波 豊隆、箕越 靖彦、益崎 裕章「視床下部 AMPK は炭水化物嗜好性を制御する」第 39 回肥満学会、2017
- 4) Shiki Okamoto 「視床下部室傍核 CRH ニューロンの AMPK は食物嗜好性を調節する」第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会、2017
- 5) 岡本 土毅 「視床下部室傍核 AMPK による食物選択行動の調節機構」第 90 回日本内分泌学会学術総会、2017
- 6) Shiki Okamoto 「AMPK in the paraventricular hypothalamic nucleus regulates food selection behavior in mice」第 94 回日本生理学会大会、2017
- 7) 岡本 土毅 「視床下部室傍核 AMPK による食物選択行動の調節機構」第 4 回 Medical Frontier Consortium beyond the Organocentric Dogma、2017
- 8) 岡本 土毅 「視床下部室傍核 AMPK による食物選択行動の調節機構」第 15 回 Tokushima Young Investigators Conference、2017
- 9) 岡本 土毅、佐藤 達也、箕越 靖彦「視床下部室傍核 AMPK による食物選択行動の調節機構」第 43 回日本神経内分泌学会、浜松、2016
- 10) 岡本 土毅、佐藤 達也、箕越 靖彦「視

床下部室傍核 AMPK による食物選択行動の調節とストレス応答」第 37 回肥満学会、2016

11) 岡本 土毅、佐藤 達也、箕越 靖彦「視床下部室傍核 AMPK による食物選択行動の調節機構」第 1 回愛知糖尿病・内分泌研究会、2016

12) 岡本 土毅、佐藤 達也、箕越 靖彦「視床下部室傍核による食物選択行動の調節とストレス応答」第 1 回食欲・食嗜好の分子・神経基盤研究会（生理学研究所研究会）2016

13) 岡本 土毅「視床下部による食餌嗜好性制御機構の解明と肥満による影響」Diabetes Forum For Next Generation in 京滋・北陸、2016

14) 岡本 土毅、「視床下部AMPKによる食物選択行動調節機構の解明」第22回宮崎代謝内分泌研究会、2015

15) Shiki Okamoto,Tatsuya Sato,Yasuhiko Minokoshi「AMP-activated protein kinase in CRH neurons in the PVH controls food selection behavior」The 36th The Annual Meeting of Japan Society for the Study of Obesity, The 8th Asia-Oceania Conference on Obesity, The 46th NIPS International Symposium, 2015

16) 岡本 土毅、「ウィルスベクターを用いた視床下部-摂食調節機構の研究ー視床下部室傍核AMPKによる食餌嗜好性制御機構の解明」栄養学若手研究者の集い第49回サマーセミナー、2015

17) Shiki Okamoto,Tatsuya Sato,Yasuhiko Minokoshi「AMP-activated Protein Kinase in CRH Neurons in the PVH Controls Food Selection Behavior」第38回日本神経科学大会、2015

18) Shiki Okamoto,Tatsuya Sato,Yasuhiko Minokoshi「AMP-activated Protein Kinase in CRH Neurons in the PVH Controls Food Selection Behavior」75th Scientific sessions of American Diabetes Association, 2015

19) 岡本土毅、箕越靖彦 「「視床下部室傍核 AMPK による食物選択行動の調節機構」第 69 回日本栄養・食糧学会大会、2015

20) 岡本土毅、箕越靖彦 「視床下部室傍核 AMPK による食物選択行動の調節機構」第 12 回 GPCR 研究会、2015

〔図書〕(計 4 件)

益崎裕章、岡本土毅、小塚智沙代：「脳における炎症と糖尿病」糖尿病診療マスター 15(10) 825-830 医学書院 (2017)

岡本土毅：「特集 エネルギー代謝調節研究の新展開 エネルギー摂取を制御する視床下部神経回路網」内分泌・糖尿病・代謝内科 44 (6) 463-467 科学評論社 2017

岡本土毅：「特集 食欲と食嗜好のサイエンス 恒常的摂食調節機構と食嗜好性制御機構と

の関連」(企画 佐々木 努) 実験医学 35(6)933-938 羊土社 2017

岡本土毅：「特集 中枢神経系によるエネルギー代謝調節機構 中枢 AMPK による摂食調節機構」内分泌・糖尿病・代謝内科 40 (1) 9-13 科学評論社 2015

〔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

<http://www.ryudai2nai.com/doc/20180119-doc01.pdf>
<http://www.ryudai2nai.com/doc/20180119-doc04.pdf>
<http://www.ryudai2nai.com/doc/20180119-doc05.pdf>

6. 研究組織

(1)研究代表者
岡本 土毅 (OKAMOTO SHIKI)
 琉球大学・医学研究科・特命講師
 研究者番号：40342919

(2)研究分担者 ()
 研究者番号：

(3)連携研究者 ()
 研究者番号：

(4)研究協力者 ()