

研究種目： 若手研究 (B)  
 研究期間： 2009 年度～2010 年度  
 課題番号： 21790898  
 研究課題名 (和文) 視床下部—交感神経系による白色脂肪組織におけるエネルギー代謝調節  
 メカニズムの解明  
 研究課題名 (英文) Mechanism of energy metabolism in white adipose tissue via hypothalamus  
 and sympathetic nervous system

研究代表者  
 志内 哲也 (SHIUCHI TETSUYA)  
 徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・講師  
 研究者番号：70372729

## 研究成果の概要 (和文)：

本研究により、白色脂肪組織における脂肪酸合成酵素および炎症性サイトカインの発現は、中枢メラノコルチン系により部位特異的な調節を受けていることが明らかとなった。また、メラノコルチン受容体阻害による白色脂肪組織における TNF $\cdot$  の上昇は、摂食行動や細胞肥大などを伴わずに、交感神経活性の抑制による  $\beta$  アドレナリン受容体刺激の減少によるものと思われる。今後、このメカニズムとその意義を解明することは、肥満や糖尿病の発症予防につながると考えられる。

## 研究成果の概要 (英文)：

This study investigated effect of melanocortin receptor blockade on expression of inflammatory cytokine in white adipose tissue (WAT). Results suggest that i.c.v. administration of agouti-related protein acutely increases the proinflammatory cytokine expression such as TNF $\cdot$  in epididymal WAT via the attenuation of sympathetic nerve activity innervating the tissue and stimulation of beta-adrenergic receptor, without any change in the tissue hypertrophy and food intake.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

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：白色脂肪組織・メラノコルチン系・交感神経系・炎症性サイトカイン・ $\beta$  アドレナリン受容体

## 1. 研究開始当初の背景

視床下部は摂食行動を司るとともに、生体内のエネルギー代謝をコントロールする中枢神経系として知られている。申請者らは、視床下部が交感神経系を介することで末梢組織における糖・脂質代謝を調節していることを、これまでに数多く報告してき

た。しかしながら、レプチンやオレキシンが視床下部に作用した後、どのような経路で交感神経系を活性化するかは不明である。

申請者らは、高脂肪食摂取によりレプチン抵抗性を発症しているマウスの中枢メラノコルチン受容体を刺激すると、骨格筋において脂肪酸酸化を促進する AMPK のリン

酸化が増強することを見出した。また我々は、レプチンによる末梢組織での糖取込み促進作用はメラノコルチン受容体を介することも確認している。メラノコルチン受容体の刺激は、交感神経系を活性化することも報告されているので、これらの作用は交感神経を介する可能性が高い。一方、持続的にメラノコルチン受容体を刺激すると、白色脂肪組織における脂肪合成を促進し、逆に継続的なメラノコルチン受容体刺激は、白色脂肪組織重量の減少と脂肪分解酵素の発現上昇を示すことが報告されていた。これらの実験結果は、骨格筋のみならず白色脂肪組織におけるエネルギー代謝にも、視床下部あるいはメラノコルチン受容体が関与することを示唆する。しかしながら、このような交感神経活性調節に対して、メラノコルチン受容体がどのように関与するかは不明である。このように、中枢神経系を介した交感神経活性による白色脂肪組織におけるエネルギー代謝調節作用の変化を調べることは、肥満患者が増加している今日の現代社会において、非常に意義深いと考えた。

## 2. 研究の目的

本研究では以下のことを目的として実験を行った。

[1] 中枢メラノコルチン受容体の抑制による白色脂肪組織に及ぼすエネルギー代謝の影響を調べる。

[2] 白色脂肪組織における交感神経活性調節に、メラノコルチン受容体が重要な役割を明らかにする。

[3] 交感神経の外科的切除や化学的阻害を行い、白色脂肪組織におけるエネルギー代謝調節に対する交感神経の重要性を調べる。

[4] 交感神経末端から放出されるノルアドレナリンと $\beta$ 受容体に着目し、遺伝子改変マウスを用いて、交感神経活性と神経伝達物質による白色脂肪細胞におけるエネルギー代謝調節メカニズムを解明する。

## 3. 研究の方法

(1) 実験に先立ち、マウスの側脳室内への脳カニューレ挿入・留置手術を行い、2週間の体重回復期をおいた。実験当日は、メラノコルチン受容体アゴニスト (MT-II) およびアンタゴニストである Agouti-related protein (AgRP) を無麻酔非拘束のマウスの脳室内に投与し、6時間後に白色脂肪組織を採取した。また、AgRP と同様の摂食促進神経ペプチドである NPY も投与した。

(2) 交感神経活性の指標として、カテコラミン合成阻害薬を用いて白色脂肪組織におけるノルアドレナリン代謝回転を測定した。さらに交感神経系の関与を調べるため、白色脂肪組織に投射する交感神経の外科的切除を行った。加えて、 $\beta$ アドレナリン受容体の関与を調べるため、薬理的阻害法や、 $\beta$ アドレナリン受容体遺伝子欠損マウスを用いて検討を行った。

(4) 交感神経の白色脂肪組織への直接的な影響を調べるため、*ex vivo* 実験法を用いてノルアドレナリンあるいは $\beta$ アドレナリン受容体阻害薬を添加し、遺伝子発現解析を行った。また、3T3-L1 成熟脂肪細胞を用いて同様の実験を行った。

(5) 白色脂肪組織における遺伝子発現の変化は、リアルタイム PCR 法を用いて測定した。

## 4. 研究成果

(1) マウスの側脳室内にメラノコルチン受容体アンタゴニストである AgRP を投与すると、精巣上体の白色脂肪組織 (EWAT) において脂肪酸合成酵素 (FAS) および炎症性サイトカインである IL-6 と TNF $\alpha$  の mRNA 発現が増加した。これに対して鼠径部の白色脂肪組織 (IWAT) においては、FAS の発現増加は見られなかったものの、炎症性サイトカインの発現上昇は認められなかった。また、MCP-1 や F4/80 などマクロファージ関連の遺伝子発現を調べたが、AgRP 投与による差は両 WAT とともに認められなかった。一方、メラノコルチン受容体アゴニストである MTII を側脳室内に投与しても、上記の遺伝子発現に変化はなかった。

(2) コントロール群と AgRP 投与群との間において血中のグルコース、インスリン、アドレナリン、ノルアドレナリン、グルココルチコイド濃度に差はなかった。

(3) 一方、AgRP と同じ摂食促進物質である NPY を側脳室内に投与しても、EWAT における TNF $\alpha$  および IL-6 の発現に変化はなかった。

(4) カテコラミン代謝回転を測定すると、AgRP 投与群の EWAT において有意な減少がみられたことから、交感神経系が関与する可能性を見出した。そこで、交感神経系の関与を調べるため、アドレナリン $\beta$ 受容体遺伝子欠損 ( $\beta$ -less) マウスを用いて検討を行った。 $\beta$ -less マウスの EWAT および IWAT では、野生型マウスと比べて FAS、TNF $\alpha$  および IL-6 の発現が増加していた。このような  $\beta$ -less マウスの側脳室内に AgRP を投与しても、EWAT における TNF $\alpha$  と IL-6 の mRNA 発現のさらなる変化は見られなかった。また、野生型マウスで見られた AgRP 投与による FAS の発現増

加は、両 WAT とも見られなかった。

(5) 野生型マウスに $\beta$ アドレナリン受容体阻害薬を一過性に投与すると WAT における TNF $\cdot$ が増加した。同様の結果は、EWAT へ注射している交感神経を外科的に切除した場合でも認められた。さらに、WAT を用いた ex vivo 実験系の結果、ノルアドレナリンの刺激により濃度依存的な TNF $\cdot$ の発現が有意に抑制され、 $\cdot$ アドレナリン受容体阻害薬によりこの作用は解除された。これと同様の結果が、3T3-L1 成熟脂肪細胞においても認められた。

(6) 以上のことより、AgRP 脳室内投与による WAT における TNF $\cdot$ 上昇作用は、交感神経活性の抑制による $\beta$ アドレナリン受容体刺激の減少によるものと思われる。今後、このメカニズムとその意義を解明することは、肥満や糖尿病の発症予防につながると考えられる。

#### 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 6 件) すべて査読有

1. Matsuo E, Mochizuki A, Nakayama K, Nakamura S, Yamamoto T, Shioda S, Sakurai T, Yanagisawa M, Shiuchi T, Minokoshi Y, Inoue T.  
Decreased Intake of Sucrose Solutions in Orexin Knockout Mice.  
*J Mol Neurosci.* 2011  
Feb;43(2):217-24.
2. Uchida K, Dezaki K, Damdindorj B, Inada H, Shiuchi T, Mori Y, Yada T, Minokoshi Y, Tominaga M.  
Lack of TRPM2 Impaired Insulin Secretion and Glucose Metabolisms in Mice.  
*Diabetes.* 2011 Jan;60(1):119-26.
3. Sasaki T, Kim HJ, Kobayashi M, Kitamura YI, Yokota-Hashimoto H, Shiuchi T, Minokoshi Y, Kitamura T.  
Induction of Hypothalamic Sirt1 Leads to Cessation of Feeding via Agouti-Related Peptide.  
*Endocrinology.* 2010  
Jun;151(6):2556-66.
4. Uchida K, Shiuchi T, Inada H, Minokoshi Y, Tominaga M.  
Metabolic adaptation of mice in a cool environment.  
*Pflugers Arch.* 2010

Apr;459(5):765-74.

5. Shiuchi T, Haque MS, Okamoto S, Inoue T, Kageyama H, Lee S, Toda C, Suzuki A, Bachman ES, Kim YB, Sakurai T, Yanagisawa M, Shioda S, Imoto K, Minokoshi Y.  
Hypothalamic orexin stimulates feeding-associated glucose utilization in skeletal muscle via sympathetic nervous system.  
*Cell Metab.* 2009 Dec;10(6):466-80.
6. Toda C, Shiuchi T, Lee S, Yamato-Esaki M, Fujino Y, Suzuki A, Okamoto S, Minokoshi Y.  
Distinct effects of leptin and a melanocortin receptor agonist injected into medial hypothalamic nuclei on glucose uptake in peripheral tissues.  
*Diabetes.* 2009 Dec;58(12):2757-65.

[学会発表] (計 12 件)

1. 志内哲也、三浦進司、江崎治、箕越靖彦  
「レプチン中枢投与後の骨格筋におけるグルコース取込みと AMPK の調節作用」  
第 31 回日本肥満学会 (2010.10.1~2010.10.2) 前橋テルサ・群馬
2. 志内哲也、三浦進司、江崎治  
「中枢レプチン投与後の骨格筋でのグルコース取込みにおける AMPK の関与」  
第 65 回日本体力医学会 (2010.9.16~2010.9.18) 千葉商科大学、和洋女子大学・千葉
3. 志内哲也  
「オレキシンによる交感神経を介した糖代謝調節メカニズム」(招待講演)  
第 3 回脳・神経・内分泌系から運動の意義を考える会 (2010.9.15) 和洋女子大学・千葉
4. Tetsuya Shiuchi、Yasuhiko Minokoshi  
「Feeding-associated glucose metabolism in skeletal muscle via hypothalamic orexin system」シンポジウム “食調節に関わる taste-brain-gut axis の最前線”  
第 44 回日本味と匂学会大会 (2010.9.8~2010.9.10) 北九州国際会議場・福岡
5. Tetsuya Shiuchi, Shiki Okamoto, Chitoku Toda, Yasuhiko Minokoshi  
「Hypothalamic orexin stimulates feeding-associated glucose metabolism in skeletal muscle via sympathetic nervous system」

- The 11th International Congress of Obesity (2010.7.11 ~ 2010.7.15)  
Stockholm・Sweden
6. 志内哲也  
「視床下部オレキシンによる骨格筋糖代謝調節作用」(招待講演)  
第2回分子骨格筋代謝研究会  
(2010.5.22) 京都大学・京都
  7. Tetsuya Shiuchi, Shiki Okamoto, Chitoku Toda, Yasuhiko Minokoshi  
「Hypothalamic orexin regulates feeding-associated glucose metabolism in skeletal muscle via sympathetic nervous system」  
日本生理学会 (2010.5.19~2010.5.21)  
盛岡市民文化ホール・岩手
  8. 志内哲也  
「視床下部オレキシンによる骨格筋での糖代謝調節と動機付け摂食行動との作用連関」  
生理研研究会 (2010.2.12~2010.2.13)  
岡崎カンファレンスセンター・愛知
  9. 志内哲也、箕越靖彦  
「視床下部オレキシン-交感神経系による骨格筋でのグルコース代謝調節作用」  
シンポジウム“摂食・代謝調節の分子機構——中枢と末梢のクロストーク”  
第62回日本自律神経学会総会  
(2009.11.5~2009.11.6) ロイネットホテル和歌山・和歌山
  10. 箕越靖彦、志内哲也  
「骨格筋でのグルコース代謝に及ぼす視床下部オレキシンの調節作用」シンポジウム“エネルギー代謝と肥満症”  
第30回日本肥満学会 (2009.10.9~2009.10.10) アクトシティ浜松・静岡
  11. Tetsuya Shiuchi, Atsushi Suzuki, Suni Lee, Chitoku Toda, Shiki Okamoto, Yasuhiko Minokoshi.  
「Orexins enhance glucose metabolism in skeletal muscle via mediobasal hypothalamus-sympathetic nerve and  $\alpha$ -2-adrenergic pathway」  
The 36th International Union of Physiological Sciences (2009.7.27~2009.8.1) Kyoto・Japan
  12. 志内哲也  
「骨格筋での糖代謝調節におけるオレキシンの作用機序」(招待講演)  
第5回GPCR研究会 (2009.5.8~2009.5.9) 日本科学未来館・東京

〔図書〕(計3件)

1. 志内哲也・箕越靖彦「視床下部を介したエネルギー代謝調節機構」(2011) Annual Review 糖尿病・代謝・内分泌 2011 [中外医学社] 印刷中
2. 志内哲也・箕越靖彦「視床下部オレキシンによる骨格筋でのグルコース利用促進機構」(2010) 糖尿病学 2010 [診断と治療社] p22-p30
3. 志内哲也・箕越靖彦「視床下部による血糖レベルの調節」(2009) 体育の科学 [杏林書院] Vol.59 No.7 p457-464

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

志内 哲也 (SHIUCHI TETSUYA)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・講師

研究者番号：70372729

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし