

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：32713

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K11659

研究課題名(和文)オリゴデンドロサイト前駆細胞による視床下部を介した代謝調節機構に関する研究

研究課題名(英文)Oligodendrocyte progenitor cells in the hypothalamus play a role in feeding

研究代表者

福島 篤 (Fukushima, Atsushi)

聖マリアンナ医科大学・医学部・講師

研究者番号：10442716

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：視床下部には、オリゴデンドロサイト前駆細胞(Oligodendrocyte Precursor Cell, OPC)・NG2陽性の細胞が散在する。この細胞は、成熟した中枢神経系でも認められるが、その機能は不明な点が多い。また同時にこの細胞は血小板成長因子受容体・Platelet-Derived Growth Factor Receptor alpha (PDGFR)も発現している。PDGFRを発現するOPC(NG2グリアとも呼ばれている)が代謝調節に関与しているかどうかを検討した。その結果、視床下部のオリゴデンドロサイト前駆細胞は、摂食調節に関与している可能性があることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

オリゴデンドロサイト前駆細胞(Oligodendrocyte Precursor Cell, OPC)は中枢神経系の髄鞘を形成するオリゴデンドロサイトの前駆細胞であるが、中枢神経系に豊富に存在しており、近年はそれ以外にも多様な機能のことが想定されている。我々は、摂食の調節にも視床下部のOPCが関与している可能性を見出した。OPCが摂食を調節する新たなプレーヤーとなるならば、それをターゲットとして、新たな抗肥満薬の開発に貢献することも可能となると期待している。

研究成果の概要(英文)：Most PDGFR-immunoreactive cells in the brain are also NG2 positive and these cells are termed oligodendrocyte progenitor cells (OPCs). It is suggested that OPCs are not only differentiated to cells formed myelin sheath but also developed to functional neurons. However, precise physiological role of OPCs are not well documented. Previously, we suggested PDGFR as a fasting-induced gene in the hypothalamus by means of expression array. Indeed, it was reported that NG2 cells in the median eminence were involved in body weight control. So, we hypothesized that PDGFR-mediated signals in the hypothalamus were involved in metabolic control under physiological condition. We showed that PDGFR protein in the hypothalamus was induced by fasting under chow feeding but this induction was impaired under high fat diet feeding which caused obesity. This result lead us to think that PDGFR plays not only a physiological but also a pathological role in feeding control.

研究分野：生理学

キーワード：オリゴデンドロサイト前駆細胞 視床下部 PDGFR

1. 研究開始当初の背景

肥満状態で認められる全身の慢性炎症は、インスリン抵抗性を含む多くの代謝疾患の基盤を形成する。末梢組織においてこの炎症反応は、脂肪組織マクロファージにより産生・分泌される炎症性サイトカインに引き起こされることが知られているが、中枢神経においては、グリア細胞が関与しているとの報告はあるが、詳しいメカニズムはいまだ明らかではない。1980年代にこれまでのグリア細胞(ミクログリア、アストロサイト、オリゴデンドロサイト)とは、形態学的にも機能的にも異なる第4のグリア細胞としてNG2グリアは、発見された。NG2グリアは胎生期においてオリゴデンドロサイトを産生する細胞群として見いだされたことから、オリゴデンドロサイト前駆細胞ともよばれている。NG2グリアは生体脳においても広範かつ豊富に存在し、一生涯にわたりオリゴデンドロサイトを産生することが報告されている。さらに、正常時および病態時において、この細胞はニューロンやアストロサイトも産生されることも報告されている。このように、成体脳におけるNG2グリアは、オリゴデンドロサイトやアストロサイトなどの分化細胞の供給源としての役割を担う一方で、分裂により産生された細胞の多くは(約80%)、分化しないままNG2グリアとして残ることも報告されている。研究代表者は、脳内、特に視床下部におけるPDGFR α が絶食により変化することを偶然見いだした。PDGFR α を発現している細胞群は、NG2グリアであった。また、脳室内にPDGFを持続投与すると、摂餌量は変化がないにもかかわらず、夜間の行動量が低下し、酸素消費量が減少して(図-1)その結果、肥満を惹起することも見いだした。さらに、PDGFの脳室内持続投与は、視床下部背内側核において、転写制御因子の一つであるMyocyte enhancer factor-2(MEF2C)陽性細胞数の抑制をきたすことも見いだした。

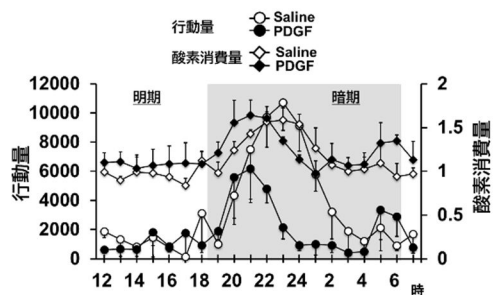


図-1: PDGF脳内投与直後の行動量・酸素消費量の変化

細は不明であり、まして中枢神経系による代謝調節にPDGF系がどのように関与するのかを研究した *in vivo* の報告はなく、代謝調節に対する関与や意義は不明である。

この点に着目し、研究代表者は、PDGFR α を発現する視床下部のNG2グリアは、代謝調節メカニズムに関与する、という仮説を立てた。そして問題と思えたのは、NG2グリアが、オリゴデンドロサイトに分化して代謝調節に関与しているのか、分化する以外に自身が持つ多彩な機能の一つとして代謝調節に関与しているのか、を明確にしないと行けないと考えた。また、NG2グリアが代謝調節に関与するとしても、どのような分子が仲介しているのか、という疑問も同時に生じた。オリゴデンドロサイトは髄鞘、ミエリンを形成して神経細胞の機能に必須の役割を演じているが、他にも多彩な機能を持っている。これまで、中枢神経系の再生を困難にしているのは、ミエリンが形成されるとそこから軸索伸張を抑制する物質が分泌されるからだという仮説があり、オリゴデンドロサイトから分泌される軸索再生阻害因子Nogoが発見、同定された。近年ではその受容体の内因性アンタゴニスト、Lateral Olfactory Tract Usher Substance (LOTUS) が同定され、神経の再生が促進された。

2. 研究の目的

本研究は、オリゴデンドロサイト前駆細胞(NG2グリア)が自身として代謝調節に関与するのか、分化して成熟したオリゴデンドロサイトとして代謝調節に関与するのか、を明らかにする。このためにそれぞれの細胞をジフテリアトキシン(dtA)により選択的に視床下部背内側核で除去して、代謝調節に対する影響を検討する。同時に、NG2グリアの代謝調節作用が、軸索再生阻害因子Nogoや神経回路促進因子LOTUSにより仲介されるのか、を検討する。もって中枢性代謝調節メカニズムに視床下部背内側核のNG2グリアのPDGFRを介したシグナル伝達系がNogo系を介して作用する、との仮説を検証することを目的とし、(A)視床下部背内側核のオリゴデンドロサイト前駆細胞、もしくは成熟したオリゴデンドロサイト細胞のみを除去して、代謝機能に対する影響を観察する、(B)様々な摂食状態で軸索再生阻害因子Nogoや神経回路促進因子LOTUSの変化を観察する。

3. 研究の方法

様々な摂食状態で軸索再生阻害因子 Nogo や神経回路促進因子 LOTUS 系の変化を観察

- (1) 通常の摂食状態をコントロールとして、24 時間絶食、24 時間絶食後再給餌、24 時間絶食後、脂肪細胞から分泌され摂食を抑制するレプチンを投与 (1.0 μ l/g 体重) による
- (2) 高脂肪(45Kcal%脂肪含有量;HFF)を含んだ餌を給餌による
- (3) 脳内のグリア細胞を選択的に除去する餌を給餌による、Nogo-LOTUS 系の変化を観察した。

上記、給餌条件下のマウスを使用して以下の項目を検討した。

- ・組織化学的検討：Iba1、(以上ミクログリアのマーカー) PDGFR (以上オリゴデンドロサイト前駆細胞のマーカー) 等を免疫染色して、標的とする細胞の減少を定量した。
- ・ウェスタンブロット：イソフルレン麻酔後、脳を摘出し視床下部のサンプルを採取する。定型的にタンパク質を抽出し、電気泳動、転写後、目的のタンパク質の1次抗体を反応させ化学発光法にてシグナルを検出した。(測定するの分子は、Nogo 受容体とその関連受容体 (Troy や Lingo-1)、そのリガンド(Nogo-A、OMgp および MAG)、内因性のアンタゴニスト LOTUS などである)
- ・体重および摂餌量：体重および摂餌量を測定した。

4. 研究成果

第一段階としてオリゴデンドロサイト前駆体細胞消去を目的としたマウス PDGFR <tm1.1(EGFP/cre/ERT2)Hyma>、分化し成熟したオリゴデンドロサイト細胞消去を目的としたマウス Mbp-iCreERT2 を導入し、アデノ随伴ウイルスを利用し、その細胞に細胞死を誘導し、死滅して消去、除去する予定であったが、コロナ禍の影響により申請時に計画していた遺伝子組み換えマウスの導入に時間を要してしまった。また、本実験で用いる予定のアデノ随伴ウイルスのオリゴデンドロサイト前駆細胞との共存確認に時間を要してしまったため大幅な遅れをとっている。

そこで、様々な摂食状態で軸索再生阻害因子 Nogo や神経回路促進因子 LOTUS 系の観察を行うことにした。はじめに、通常食給餌マウスを 18 時間絶食させ、Nogo-LOTUS 系の変化を検討した。その結果、オリゴデンドロサイトから分泌される Nogo は変化を示さなかったが、その受容体の内因性アンタゴニスト LOTUS は、絶食により有意に増加することがわかった (図-2)。次に、レプチン投与により検討を行った結果、視床下部の Nogo-A はレプチン投与により有意に発現が増加した (図-3)。

図-2: 絶食による視床下部におけるNogo・LOTUS発現

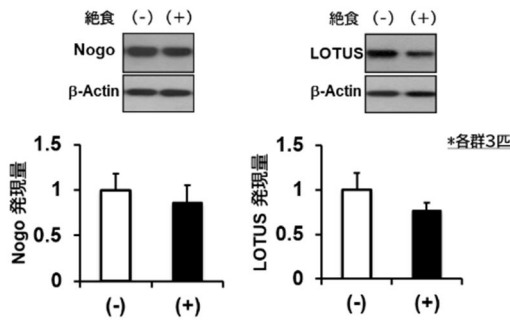


図-3: レプチン投与によるNogo-AおよびPDGFR α 発現

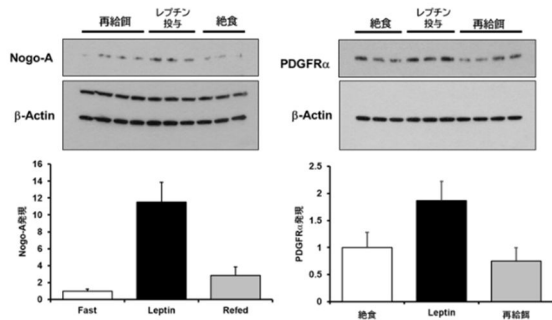
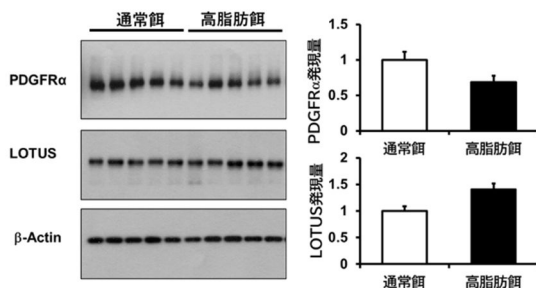


図-4: 高脂肪餌給餌によるLOTUSおよびPDGFR α 発現



高脂肪(45Kcal%脂肪含有量;HFF)を含んだ飼料を給餌し、様々な給餌条件下で、Nogo-LOTUS 系を検討した。その結果、HFF を長期間(32 週間)給餌した群においてオリゴデンドロサイトから分泌される Nogo は変化を示さなかったが、その受容体の内因性アンタゴニスト LOTUS は、有意に増加することがわかった(図-4)。この変化は、3 週間給餌や 12 週間給餌では認められなかった。

図-5:免疫染色法を用いたグリア細胞除去餌給餌によるPDGFR α およびIba-1発現

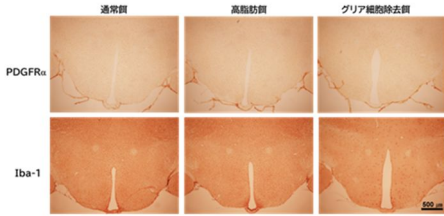


図-6:グリア細胞除去餌給餌による視床下部PDGFR α 発現

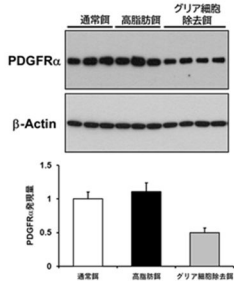
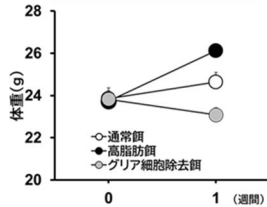


図-7:グリア細胞除去餌給餌による体重の変化



脳内のグリア細胞を選択的に除去する餌を用いて、脳内のグリア細胞を除去し、体重・摂食量及び視床下部におけるタンパク質発現を検討した。その結果、グリア細胞のマーカー(Iba-1 や PDGFR)を用いた免疫染色 (図-5) またウエスタンブロット法による検討の結果 (図-6) 視床下部におけるグリア細胞数は有意に減少した。グリア細胞除去餌を給餌された群においてコントロール食給餌群と比較し摂食量の変化は認められなかったが、体重の有意な減少が認められた (図-7)。

以上の結果より、視床下部の PDGFR を発現しているオリゴデンドロサイト前駆細胞は、視床下部に存在する摂食調節機構に参与している可能性があることがわかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 福島 篤	4. 巻 654
2. 論文標題 視床下部のオリゴデンドロサイト前駆細胞による摂食の調節	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Medical Science Digest	6. 最初と最後の頁 52-55
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	長谷 都 (Nagatani Miyako) (20450611)	聖マリアナ医科大学・医学部・准教授 (32713)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関