

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 31 日現在

機関番号：32202

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010 ～ 2011

課題番号：22659044

研究課題名（和文）オキシトシンの新規機能の展開：摂食制御の神経経路と生理的病態的役割

研究課題名（英文） Novel function of oxytocin: its anorectic neuronal pathway and (patho)physiological role in regulating feeding

研究代表者

矢田 俊彦 (YADA TOSHIHIKO)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：60166527

研究成果の概要（和文）：

室傍核 nesfatin-1 (Nesf)-オキシトシン (Oxt) ニューロン系の下流神経経路と上流制御系

- (1) Oxt ニューロン神経終末は延髄孤束核(NTS) POMC に加えて、視床下部弓状核(ARC) POMC ニューロンにコンタクトしていた。Oxt の脳室内投与により弓状核 POMC ニューロンに c-FOS 発現が見られた。Oxt は単離弓状核 POMC ニューロンの細胞内 Ca^{2+} を増加させた。以上の結果より、Oxt は弓状核 POMC ニューロンにも神経伝達することが明らかとなった。
- (2) 48 時間絶食後に 2 時間再摂食させた条件で、室傍核(PVN)Oxt 及び弓状核 POMC ニューロンの mRNA は変化せず、Oxt-mRFP-Tg ラットの室傍核 RFP 蛍光の更なる増加は捉えられなかった。
- (3) 室傍核 Oxt ニューロンを制御している Nesf ニューロンが、食事因子の高グルコースとインスリンにより活性化されることを明らかにした。

末梢投与 Oxt の摂食・代謝作用

- (1) Oxt は、求心性迷走神経から単離した Nodose Ganglion Neuron に直接作用して細胞内 Ca^{2+} を増加させることを観察した。
- (2) 高脂肪食負荷により肥満したマウスに Oxt の末梢投与（皮下および浸透圧ポンプ）を 2 週間行ったところ、延髄孤束核と室傍核が活性化され、摂食抑制とエネルギー消費亢進により体重が減少し、内臓脂肪蓄積・脂肪肝・高血糖が改善した。末梢投与 Oxt の中枢情報伝達と抗肥満・抗メタボリックシンドローム効果について論文を発表し (Aging 3: 1169-1177, 2011)、特許を出願した。

Nesf のストレス応答への関与

- (1) ラットに拘束ストレスを負荷すると、ストレス関連神経核に局在する Nesf ニューロンが活性化された。
- (2) Nesf を脳室内投与すると、ストレス関連神経核の CRH・ノルアドレナリン・セロトニンニューロンが活性化され、さらに、血中 ACTH, コルチコステロンレベルが上昇した。

研究成果の概要（英文）：

PVN Nesf neuron's downstream circuits and upstream regulators

- (1) Histological and physiological data supported that the Oxt neuron in the hypothalamic PVN projects to the POMC neuron in the ARC, in addition to the NTS POMC neuron in the NTS as previously reported.
- (2) Re-feeding following 48 hours fasting neither affected the mRNA levels for PVN Oxt and ARC POMC nor further increased the red fluorescence in the PVN of Oxt-mRFP-Tg rats.
- (3) PVN Nesf neurons that regulate oxytocin neurons were activated directly by high glucose and insulin, the meal-evoked factors.

Peripheral administration of Oxt suppresses feeding and ameliorates obesity

- (1) Oxt increased cytosolic Ca^{2+} in Nodose Ganglion Neurons isolated from the vagal afferent of mice.

- (2) In high fat diet-induced obese mice, peripheral administration of Oxt ameliorated obesity, visceral fat accumulation, fatty liver and hyperglycemia, thereby showing ant-obesity and anti-metabolic syndrome effects.

Involvement of PVN Nesf-Oxt system in stress responses

- (1) Restrain stress activated Nesf neurons in the stress-related nuclei.
 (2) Central injection of Nesf activated noradrenalin, serotonin and CRH neurons and increased plasma levels of ACTH and glucocorticoid, which are key mediators of stress responses

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,800,000	0	1,800,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,800,000	300,000	3,100,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・生理学一般

キーワード：Oxytocin・Nesfatin-1・摂食・体重・室傍核

1. 研究開始当初の背景

- (1)Oxt は、分娩促進・射乳の雌性の周産期機能に特化したホルモンとして確立しているが、最近摂食への関与が示唆されている。
 (2)＜室傍核 Nesf-Oxt-孤束核 POMC＞が新しい摂食抑制経路として発見されたが、その調節機構は未解明である。
 (3) Oxt 投与による肥満の改善の可能性が考えられる。
 (4) 摂食とストレスは密接に関連しているが、Nesf-Oxt 系とストレスの関係は解っていない。

2. 研究の目的

Oxt の摂食・代謝調節機能を以下の実験により確立する。

- (1) 室傍核 Oxt ニューロンの下流神経経路を更に同定する。
 (2) 室傍核 Oxt ニューロンの上流制御系を同定する。
 (3) Oxt の摂食調節における役割と肥満に対する治療的意義を明らかにする。
 (4) 室傍核 Nesf-Oxt 系のストレス応答、ストレス性摂食変調への関与を明らかにする。

3. 研究の方法

- (1) Oxt ニューロンの神経投射は組織学的に解析。
 (2) Oxt によるニューロン調節は細胞内 Ca²⁺濃度測定により解析。
 (3) 高脂肪食負荷により作成した肥満マウス

に、Oxt を末梢投与し、体重、摂食、脂肪肝、高血糖に対する作用を解析。

- (4)ラットに拘束ストレスを負荷し、Nesf ニューロンの活性化を cFos 発現により評価。また、Nesf 脳室内投与によるストレス関連神経の活性化を cFos 発現により評価し、血中ストレス関連ホルモンの変化を RIA,ELISA により測定。

4. 研究成果

(1)室傍核 Nesf -Oxt ニューロン系の下流神経経路と上流制御系

- ① Oxt ニューロン神経終末は延髄孤束核 POMC に加えて、視床下部弓状核 POMC ニューロンにコンタクトしていた。Oxt の脳室内投与により弓状核 POMC ニューロンに c-FOS 発現が見られた。Oxt は単離弓状核 POMC ニューロンの細胞内 Ca²⁺を増加させた。以上の結果より、Oxt は弓状核 POMC ニューロンにも神経伝達することが明らかとなった。
 ② 48 時間絶食後に 2 時間再摂食させた条件で、室傍核 Oxt 及び弓状核 POMC ニューロンの mRNA は変化しなかった。
 ③ Oxt-mRFP-Tg ラットの室傍核 RFP 蛍光は非常に強く、48 時間絶食後の 2 時間再摂食により更なる増加は捉えられなかった。
 ④ 室傍核 Oxt ニューロンを制御している Nesf ニューロンが、食事因子の高グル

コースとインスリンにより活性化されることを明らかにした。

(2)末梢投与 Oxt の摂食・代謝作用

- ① Oxt は、求心性迷走神経から単離した Nodose Ganglion Neuron に直接作用して細胞内 Ca^{2+} を増加させることを観察した。
- ② 高脂肪食負荷により肥満したマウスに Oxt の末梢投与（皮下および浸透圧ポンプ）を2週間行ったところ、延髄孤束核と室傍核が活性化され、摂食抑制とエネルギー消費亢進により体重が減少し、内臓脂肪蓄積・脂肪肝・高血糖が改善した。末梢投与 Oxt の中枢情報伝達と抗肥満・抗メタボリックシンドローム効果について論文を発表し（Aging 3: 1169-1177, 2011）、特許を出願した。

(3) Nesf のストレス応答への関与

- ① ラットに拘束ストレスを負荷すると、ストレス関連神経核に局在する Nesf ニューロンが活性化された。
- ② Nesf を脳室内投与すると、ストレス関連神経核の CRH・ノルアドレナリン・セロトニンニューロンが活性化され、さらに、血中 ACTH、コルチコステロンレベルが上昇した。

(4)国内外における位置づけとインパクト、今後の展望

- ① 室傍核 Oxt ニューロンと孤束核の解剖学的関連は海外の研究室でも報告されていたが、室傍核 Oxt の弓状核 POMC への神経伝達は本研究が世界初の発見である。本研究結果は、一次中枢弓状核と二次中枢室傍核の双方向性連絡を示唆しており、摂食中枢の情報経路の理解の刷新に繋がる可能性がある。
- ② 末梢投与 Oxt の抗肥満効果は海外の2つの研究室からも我々と同時期に2011年に発表された。しかし抗メタボリックシンドローム効果を示したのは本研究が初であり、今後のヒト肥満・メタボリックシンドローム治療応用に向けた基盤研究として最も進んでいる。
- ③ Nesf とストレス応答の関連は我々と同時期に海外の複数の研究室からも報告された。さらにヒト精神神経疾患で Nesf 遺伝子変異や血中 Nesf レベルの変化が報告されている。今後、脳のどの部位の Nesf がストレス応答を担うかが明らかになれば、Nesf を介したストレス疾患の解明や新規治療に繋がる可能性がある。

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 8 件）

- ① Maejima Y., Iwasaki Y., Yamahara Y., Kodaira M., Sedbazar U., Yada T.: Peripheral oxytocin treatment ameliorates obesity by reducing food intake and visceral fat mass. Aging (Albany NY) 3(12): 1169-1177, 2011, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2184277>, 査読有
- ② Maejima Y., Kohno D., Iwasaki Y., Yada T.: Insulin suppresses ghrelin-induced calcium signaling in neuropeptide Y neurons of the hypothalamic arcuate nucleus. Aging (Albany NY) 3(11): 1092-1097, 2011, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22081645>, 査読有
- ③ Kohno D., Sone H., Tanaka S., Kurita H., Gantulga D., Yada T.: AMP-activated protein kinase activates neuropeptide Y neurons in the hypothalamic arcuate nucleus to increase food intake in rats. Neuroscience Letters 499(3):194-198, 2011, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21658429>, 査読有
- ④ Nakata M., Manaka K., Yamamoto S., Mori M., Yada T.: Nesfatin-1 enhances glucose-induced insulin secretion by promoting Ca^{2+} influx through L-type channels in mouse islet β -cells. Endocr. J. 58(4):305-313, 2011, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21325742>, 査読有
- ⑤ 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 60(1):119-126, 2011, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20921208>, 査読有
- ⑥ Yoshida N., Maejima Y., Sedbazar U., Ando A., Kurita H., Damdindorj B., Takano E., Gantulga D., Iwasaki Y., Kurashina T., Onaka T., Dezaki K., Nakata M., Mori M., Yada T.: Stressor-responsive central nesfatin-1 activates corticotropin-releasing hormone, noradrenaline and serotonin neurons and evokes hypothalamic-pituitary-adrenal axis. Aging (Albany NY) 2(11):775-784,

2010, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20966530>, 査読有

- ⑦ Toriya M., Maekawa F., Maejima Y., Onaka T., Fujiwara K., Nakagawa T., Nakata M., Yada T.: Long-term infusion of brain-derived neurotrophic factor reduces food intake and body weight via a corticotropin-releasing hormone pathway in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Journal of Neuroendocrinology* 22(9):987-995, 2010, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20561155>, 査読有
- ⑧ Nakata M., Shintani N., Hashimoto H., Baba A., Yada T.: Intra-islet PACAP protects pancreatic β -cells against glucotoxicity and lipotoxicity. *J. Mol. Neurosci.* 42(3):404-410, 2010, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20461496>, 査読有

〔学会発表〕(計 24 件)

- ① 前島裕子、視床下部室傍核 Nesfatin-1-Oxytocin による摂食調節と病態的意義、第 32 回日本肥満学会、2011 年 9 月 23-24 日、淡路
- ② 前島裕子、オキシトシンの摂食制御経路に弓状核 POMC ニューロンが関与する、第 32 回日本肥満学会、2011 年 9 月 23-24 日、淡路
- ③ Sedbazar Udval、OLETF ラットの過食・肥満は孤束核 POMC と室傍核オキシトシンの低下による、第 32 回日本肥満学会、2011 年 9 月 23-24 日、淡路
- ④ Maejima Y., Nesfatin-1-regulated oxytocinergic signalling in the paraventricular nucleus causes anorexia via melanocortin pathway. 46th EASD Annual Meeting, September 20-24, 2010, Stockholm, Sweden
- ⑤ 矢田俊彦、中枢・交感神経の調節異常と食塩感受性、第 67 回日本循環器心身医学会、2010 年 11 月 27-28 日、自治医科大学
- ⑥ 前島裕子、Nesfatin-1 はオキシトシン-メラノコルチン系を介して摂食抑制する、第 31 回日本肥満学会、2010 年 10 月 1-2 日、前橋
- ⑦ Udval Sedbazar, Nesfatin-1-regulated oxytocinergic signaling in the paraventricular nucleus causes melanocortin-dependent anorexia.、日本味と匂学会第 44 回大会、2010 年 9 月 8-10 日、北九州
- ⑧ 矢田俊彦、視床下部室傍核 Nesfatin-1 はレプチン非依存性に Oxytocin-POMC 摂食抑制経路を作動する、第 28 回内分泌代謝学サマーセミナー、2010 年 7 月 8-10

日、長崎

- ⑨ 矢田俊彦、視床下部 Nesfatin-1 による Oxytocin・POMC 依存性摂食抑制経路、第 87 回日本生理学会大会、2010 年 5 月 19-20 日、盛岡

〔図書〕(計 6 件)

- ① 前島裕子、Udval Sedbazar、矢田俊彦：中枢・末梢ネスファチンによる摂食制御と神経経路。Clinical Neuroscience、中外医学社、30(2)、181-183、2012
- ② 前島裕子、矢田俊彦：Nesfatin-1 による摂食・糖代謝調節の機構と意義。実験医学、羊土社 29(8)、1240-1241、2011
- ③ 前島裕子、Sedbazar Udval、岩崎有作、高野英介、矢田俊彦：Nesfatin-1 の摂食抑制神経経路およびストレス、循環、生殖における役割。日本薬理学雑誌、金芳堂 日本薬理学会誌 出版部、137(4)、162-165、2011
- ④ 矢田俊彦：膵臓の内分泌機能と炭水化物代謝の調節(翻訳)。In ギャノン生理学。原書 23 版 岡田泰伸(監訳)、丸善出版株式会社、東京、370-396、2011
- ⑤ 出崎克也、中田正範、矢田俊彦：インスリン分泌におけるカルシウムシグナリングの役割。In 糖尿病ナビゲーター 第 2 版。門脇孝(編)、メディカルビュー社、50-51、2010
- ⑥ 中田正範、矢田俊彦：その他のインクレチン。In DPP-4 阻害薬のすべて 清野裕(編集)、先端医学社、47-51、2010

〔産業財産権〕

○出願状況(計 2 件)

- ①名称：肥満・メタボリックシンドローム治療薬、及びその動物の治療方法
発明者：矢田俊彦(届出・代表)、前島裕子、岩崎有作
権利者：自治医科大学
種類：特許
番号：特願 2011-271652
出願年月日：平成 23 年 12 月 12 日
国内外の別：国内
- ②名称：食欲調整剤、治療薬、健康食品、動物用飼料、及び食欲調整方法
発明者：矢田俊彦(届出・代表)、栗田英治、シューカイ
権利者：自治医科大学
種類：特許
番号：特願 2011-177985
出願年月日：平成 23 年 8 月 16 日
国内外の別：国内

〔その他〕
ホームページ等

新聞掲載

日本経済新聞 夕刊 平成 23 年 12 月 21 日
(水曜日)

読売新聞 朝刊 平成 23 年 12 月 25 日 (日
曜日)

ホームページ掲載

URL : 日本経済新聞 (電子版) 平成 23 年
12 月 21 日 (水曜日) 10 : 34

[http://www.nikkei.com/news/category/art
icle/g=96958A9C93819695E0E2E2E6E78DE0E3
E3E0E0E2E3E39180E2E2E2E2;at=ALL](http://www.nikkei.com/news/category/article/g=96958A9C93819695E0E2E2E6E78DE0E3E3E0E0E2E3E39180E2E2E2E2;at=ALL)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

矢田 俊彦 (YADA TOSHIHIKO)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号 : 60166527

(2) 研究分担者

中田 正範 (NAKATA MASANORI)

自治医科大学・医学部・准教授

研究者番号 : 10305120

前島 裕子 (MAEJIMA YUKO)

自治医科大学・医学部・助教

研究者番号 : 40438669