

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 1 日現在

機関番号：32713

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23790276

研究課題名（和文）

摂食行動を調節する視床下部ニューロンにおける脱リン酸化酵素 TCPTP の役割

研究課題名（英文） Role of T-cell protein tyrosine phosphatase (TCPTP) in the hypothalamus controlling feeding behavior

研究代表者

福島 篤 (FUKUSHIMA ATSUSHI)

聖マリアンナ医科大学・医学部・助教

研究者番号：10442710

研究成果の概要（和文）：

本研究は、視床下部の Pro-opiomelanocortin (POMC) ニューロンにおいて、チロシン脱リン酸化酵素の T-cell Protein Tyrosine Phosphatase (TCPTP) が Signal Transducer and Activator of Transcription 3 (STAT3) のリン酸化を調節することにより摂食行動を調節される事を明らかにする目的で行った。雌性マウスを用いて、高脂肪食負荷及びエストロジェンによって TCPTP の発現がどのように変化していくのかを検討した。その結果、TCPTP の発現はエストロジェン投与により有意に増加したが、高脂肪食負荷群では TCPTP 発現は増加したがエストロジェン投与はもはや TCPTP の発現増加を惹起しなかった。高脂肪食負荷による肥満は、POMC ではなく摂食促進物質である Neuropeptide-Y (NPY) が関与し、その上流には TCPTP が関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

The purpose of the present study was to show the possible involvement of T-cell protein tyrosine phosphatase (TCPTP) via STAT3 in pro-opiomelanocortin (POMC) neurons in feeding behavior. To this end, we tried to use Cre-Lox recombination to generate POMC neurons specific deletion of TCPTP. However, we came to realize that the mouse strain which TCPTP was selectively knocked out from POMC neurons showed no behavioral abnormality and exhibited normal feeding behavior and glucose tolerance. Thus we thought that another hypothalamic neuron was involved and NPY neuron was candidate. We decided to use NPY-mVenus mouse for the analysis. We also examined the regulation of the TCPTP expression by estrogen in chow and high fat fed mice. We found that the TCPTP expression was up regulated by estrogen and high fat diet. We are currently examining these results using NPY-mVenus mouse.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・環境生理学（含体力医学・栄養生理学）

キーワード：①チロシン脱リン酸化酵素、②TCPTP、③NPY、④POMC、⑤視床下部

## 1. 研究開始当初の背景

体内の環境因子の一つエストロジェンは様々な様式で脳の機能に影響する。特に摂食

行動には性差が顕著で、エストロジェンにより摂食が抑制され拒食を示す。結果、エストロジェンは耐糖能を改善する事から糖尿病

から守る作用があると考えられている。また、雌性の方が摂食行動調節の神経基盤が脆弱であるとも考えられ、実際、摂食障害の罹患率は女性に高い。従って、このエストロジェンの作用機序の解明は、肥満症といったメタボリックシンドロームの治療に役立てられないかと考えている。エストロジェンの拒食作用の標的となる視床下部ニューロンに、摂食を抑制する POMC ニューロンがある。しかしながら、POMC ニューロンにはエストロジェン核内受容体はほとんどなく (Fodor et al, 2001)、エストロジェンの摂食抑制作用は間接的なものと考えられる。例えば、脂肪細胞から分泌されるレプチンは POMC ニューロンの STAT3 のリン酸化を介して摂食を抑制する (Horvath TL)。しかし POMC ニューロンの STAT3 リン酸化の constitutively active は過食となり (Ernst et al, 2009)、STAT3 欠損も過食となる (Xu et al, 2006) など矛盾点も多い。

申請者は POMC ニューロンの STAT3 の働きには謎が多いと感じながら、何らかの機序で摂食行動調節の重要な要素になっていると考えている。それは、エストロジェン作用とインスリン作用の共通因子として注目されているからである (矢田ら)。そしてオーストラリアにおいて脱リン酸化酵素の一つ TCPTP による肝臓の糖代謝に関する研究を行い、衝撃を受けた。TCPTP がインスリンレセプターや Jak ファミリーの脱リン酸化を調節することにより糖代謝に関与していることが明になったのである。さらに TCPTP を組織特異的に欠損させたマウスを作製した。これらのことから、STAT3 は重要であるが、脱リン酸化の過程こそが、POMC ニューロンを介した摂食行動の調節に必須の役割を演じていると考えられるようになった。そして、TCPTP は中枢神経系に発現しているが視床下部 POMC ニューロン特異的ではない。従って、視床下部における TCPTP の役割解明のためには、POMC ニューロン特異的に TCPTP の働きを変える必要があると考えた。幸い、POMC ニューロン特異的なプロモーター領域は既に特定されており、また、POMC ニューロン特異的に Cre を発現するマウスも (Xu et al, 2006, Ernst et al, 2009)、LoxP で TCPTP を挟んだマウスも (申請者ら)、既存である。尚、TCPTP の通常のノックアウトは致死性である。

## 2. 研究の目的

視床下部ニューロンの脱リン酸化が、摂食行動を調節する、という仮説を検証する事が本研究の目的である。具体的には、視床下部 pro-opiomelanocortin (POMC) ニューロンにおいて、チロシン脱リン酸化酵素の T-cell Protein Tyrosine Phosphatase (TCPTP) が、

signal transducer and activator of transcription3 (STAT3) のリン酸化を調節することにより摂食行動が調節される事を示す。

## 3. 研究の方法

摂食行動の調節に POMC ニューロンの TCPTP が関与する事が示唆されるので、さらに POMC ニューロンの TCPTP の重要性を明らかにする。そのために環境因子を変化させ、この POMC ニューロン特異的 TCPTP ノックアウトマウスの摂食量や体重の変化とともに POMC ニューロンの活動を、STAT3 リン酸化抗体と POMC 抗体を用いた二重免疫組織化学から検討する。以下、全て POMC ニューロン特異的 TCPTP ノックアウトマウスを用いる。

### \*: 摂食状態による POMC ニューロンの活動変化

雌性マウスの場合、絶食後に一過性の肥満となる (雄性マウスには認められない)。この状況は摂食行動調節系の脆弱さと考えている。

- 1) POMC Cre<sup>+</sup>/TCPTP<sup>-/-</sup>マウスを、自由摂食群 (空腹ではない)、24時間絶食群 (空腹)、24時間絶食再摂食群 (一過性の肥満) に分ける。
- 2) STAT3 リン酸化抗体と POMC 抗体を用いて定型的に二重免疫組織化学を行う。
- 3) 二重標識されている細胞の数を計測する。

### \*: エストロジェンによる拒食作用と TCPTP の関係

雌性マウスにおいてエストロジェンは拒食作用を示し、摂食量を減少させる事により体重を減少させる。少なくともその作用の一部は POMC ニューロンの STAT3 を介することが知られている。従って、TCPTP を抑制すると (POMC Cre<sup>+</sup>/TCPTP<sup>-/-</sup>)、エストロジェンの作用が増強されると予想している。そしてそれは STAT3 のリン酸化の増強によると考えている。

- 1) POMC Cre<sup>+</sup>/TCPTP<sup>-/-</sup>マウスを用いて、成熟雌性マウス、卵巣摘除マウス、および卵巣摘除エストロジェン補充マウスとする。
- 2) STAT3 リン酸化抗体と POMC 抗体を用いて定型的に二重免疫組織化学を行う。
- 3) 二重標識されている細胞の数を計測する。

### \*: 高脂肪食による過食作用と TCPTP の関係

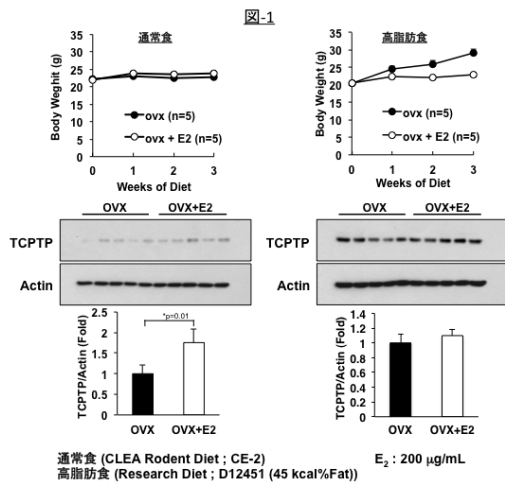
雌性マウスにおいて高脂肪食の給餌は過食作用を示し、少なくとも一部は摂食量を増加させる事により体重を増加させる。そしてその作用の一部は POMC ニューロンの STAT3

を介することが知られている。従って、TCPTPは高脂肪食作用時にはその発現が増強されている可能性があり、逆にTCPTPを抑制すると高脂肪食の作用が減弱されると予想している。

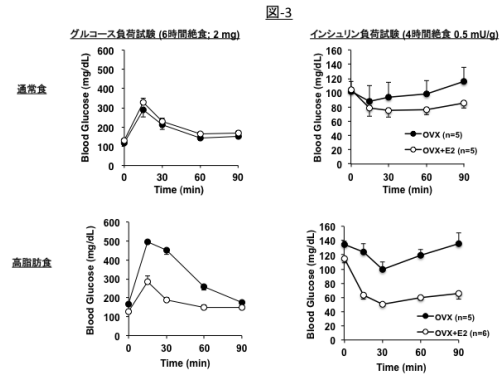
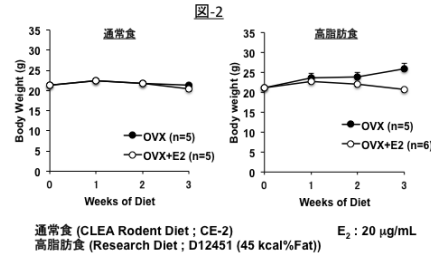
- 1) 高脂肪食を成熟雌性マウスに負荷し、4週間後に肥満が形成されていることを確認し、通常の餌給餌群を対照群とする。
- 2) STAT3リン酸化抗体とPOMC抗体を用いて定型的に二重免疫組織化学を行う。
- 3) 二重標識されている細胞の数を計測する。

#### 4. 研究成果

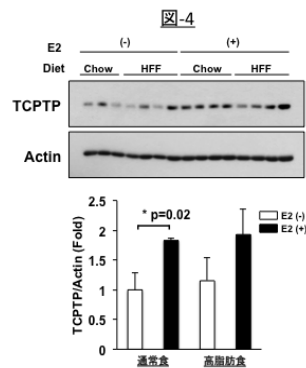
本研究の目的は、視床下部 pro-opiomelanocortin (POMC) ニューロンにおいて、チロシン脱リン酸化酵素の T-cell Protein Tyrosine Phosphatase (TCPTP) が、STAT3 のリン酸化を調節することにより摂食行動が調節される事を示すことにあった。そこで、POMCニューロン特異的にTCPTP発現をノックアウトすることにした。LoxPでTCPTPを挟んだマウスを留学先より輸送するために、まず責任者であるTigansに相談するにいたり、POMC-Creによる特異的TCPTPノックアウトマウスを既に作成した事、表現系として何も変化していない事を知らされた。そこで、その下流にある調節系が補っている可能性を考え、NPY系にターゲットをしばり学内手続きも終了してNPY-mVenusマウスを現在繁殖中である。その間にまず、通常のマウスでTCPTPの発現がどのように変化していくのか、エストロジェンと高脂肪食の効果を見る事にした。その結果、TCPTPの発現はエストロジェンで有意に増加した。一方、高脂肪食を負荷したマウスではTCPTP発現は増加したが、エストロジェンではもはやTCPTPの発現増加を惹起しなかった(図-1)。



そこで、エストロジェンをより生理的な量にして再現性を確認した。通常食の卵巣摘除マウスの体重と糖負荷にはエストロジェンの作用は認められなかったが、高脂肪食にすると体重が増加し糖負荷が悪化した。エストロジェンはこの効果を抑制した(図-2.3)。



体重および耐糖能変化は、TCPTP発現と逆の動きをした(図-4)。以上の事は、高脂肪食による肥満は、恐らくはNPYニューロンが関与し、その上流にはTCPTPが関与している事が示唆された。



#### 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0件)

[学会発表] (計3件)

1) 福島篤、他2名:第90回日本生理学会(平

成 25 年 3 月 30 日：東京都)

- 2) 福島篤、他 3 名：第 39 回日本神経内分泌学会（平成 24 年 9 月 28 日：福岡県）
- 3) 福島篤、他 3 名：第 89 回日本生理学会（平成 24 年 3 月 29 日：長野県）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

福島 篤 (FUKUSHIMA ATSUSHI)  
聖マリアンナ医科大学・医学部・助教  
研究者番号：10442710

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし