

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 12 日現在

機関番号：21601
研究種目：基盤研究(C)
研究期間：2012～2014
課題番号：24591341
研究課題名(和文) 満腹因子 Nesfatin-1 の食事・中枢時計による制御機構の解明と病態的役割

研究課題名(英文) Nesfatin-1

研究代表者
前島 裕子 (MAEJIMA, Yuko)
福島県立医科大学・医学部・研究員

研究者番号：40438669

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：暗期に光照射を行うと、摂食量、飲水量行動量は抑制され、この抑制には室傍核(PVN)、視交叉上核(SCN)、視索上核(SON)、孤束核(NTS)が関与していた。また、光照射でSCNのAVPおよびPVN オキシトシン(Oxt)ニューロンが活性化した。さらにPVNに投射するSCNニューロンの70%がAVPニューロンであった。またPVNにAVPを局所投与すると摂食が抑制された。光照射による摂食抑制はAVP受容体阻害剤で消失した。またAVPはPVN Oxtニューロンを活性化した。よって光情報はSCNのAVPニューロンとその投射先のPVN Oxtニューロンを活性化して摂食抑制すると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Light exposure decreased food intake, drinking, locomotor activity. These suppression was related to the activation of neurons in PVN, SCN, SON and NTS. Then, AVP neurons in SCN and Oxt neurons in PVN were activated by light exposure. In addition, over 70% of neurons projects to PVN were AVP neurons. Intra AVP injection into PVN decreased food intake. AVP inhibitor attenuated the light induced anorexigenic effect. AVP activated PVN Oxt neurons, directly. From these result, light information induces anorexigenic effects via activation of AVP neurons in SCN and Oxt neurons in PVN.

研究分野：神経内分泌学

キーワード：視索上核 室傍核 光 摂食 オキシトシン バソプレッシン

1. 研究開始当初の背景

近年、体内のサーカディアンリズムの障害と肥満の間には深い関係があることが報告されており、特に正常な摂食リズムは正常なエネルギー代謝制御に非常に重要であることが報告されている (Laernabs et al. 2014)。生体のサーカディアンリズムの創出は、視交叉上核 (SCN) が司っていることが古くから知られている。SCNは網膜からの光情報を脳内に反映する非常に重要な神経核であり、室傍核 (PVN)、背内側核 (DMH)、腹内側核 (VMH) など摂食、自律神経系制御に關与する多くの神経核への投射が報告されている。

摂食制御に関して我々はこれまでに PVN に局在する Nesfatin-1/オキシトシン (Oxt) による摂食制御機構を明らかにし、末梢投与 Oxt の抗肥満・抗メタボリックシンドローム効果を明らかにしてきた。これまでの研究により、摂食、エネルギー制御における Nesfatin-1/Oxt の重要性を明らかにしたものの、内因性 Nesfatin-1/Oxt の制御に関してはまだ不明な点が多く、PVN Nesfatin-1/Oxt 系の調節機構のさらなる解明が重要である。

2. 研究の目的

ラットを含むげっ歯類の摂食は暗期に亢進し、明期に抑制される。摂食行動が低調な明期に Oxt 阻害剤を脳室内投与すると摂食量が亢進することから、明期の摂食抑制リズムの創出には Oxt の関与が考えられる。また PVN における Nesfatin-1 の発現は明期で高く、暗期で低く、肥満病態動物ではそのリズムが消失していることを報告してきた。そこで本研究は、光入力 視交叉上核 (SCN) 経路を介して作られる光誘導因子による PVN Nesfatin-1/オキシトシンニューロンの制御が日内 (明期・暗期) 摂食リズムを構築するとの仮説を立て、これを

検証することを目的とした。本研究は Nesfatin-1/Oxt による摂食リズム創出メカニズムを解明することで、摂食リズム障害を修復し、新しい肥満治療の一助となると考えられる。

3. 研究の方法

動物: 正常 Wistar Rat および Oxt mRFP ラット (オス: 12時間暗期、明期) を使用し、以下の方法で実験を行った。

光が摂食行動に与える影響: 摂食、飲水、行動量測定装置 (Shin factory) を使用し、24時間1時間ごとの摂食量、飲水量、行動量を測定し、対照データとした。実験群においては、暗期開始2時間後に光 (200 lux, 3時間) を照射した。

c-Fos発現: 光照射により活性化する部位を調べるために、暗期開始2時間後に光を照射し、光照射90分後に灌流固定を行い、免疫組織学的手法により c-Fos 発現部位を調べた。さらに c-Fos 発現が見られたニューロンに関しては二重免疫染色を行った。

神経投射解析: 逆行性トレーサーであるコレラトキシン B (CTB) を、PVN に局所投与し、4日後に灌流固定を行い、SCN の CTB ラベルニューロン数および、パソプレッシンの染色を行った。

機能的解析: PVN より単離した Nesfatin-1 および Oxt ニューロンにおいてパソプレッシンの作用を調べるために、細胞内 Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$) のイメージング、および Oxt mRFP ラットを使用しスライスパッチクランプを行った。

摂食における AVP の作用: AVP の PVN における摂食制御の影響を知るために、PVN に AVP を局所投与し、摂食量を測定した。

4. 研究成果

暗期に3時間の光照射を行うと、摂食量、飲水量は最初の1時間のみ、行動量は2時間抑制された。光の照射により活性化する神経核を調べるために、暗期の光照射後90分

で灌流固定した動物においてc-Fos発現部位を調べると、PVN、SCN、視索上核(SON)、孤束核(NTS)で増加していた。

PVNのc-Fosタンパク陽性ニューロンにおいてOxtの二重染色を行った結果、c-Fos発現ニューロンの約60%がOxtニューロンであり、対照群と比較して有意に増加していた。一方、SCNには多くのニューロペプチドが分布することが知られているが、予備実験においてAVPが最も低用量で効率よく摂食抑制作用をもつことから、AVPニューロンに着目した。光照射後に発現するc-Fos発現ニューロンの約50%がAVPニューロンであることが明らかになり、有意な増加が見られた。SCN AVPの投射を逆行性トレーサーCTBで調べるとPVNに投射するニューロンの70%がAVPニューロンであった。よってSCNにおけるAVPの多くはPVNに投射することが明らかになった。

また、PVNより単離したニューロンにAVP(10^{-9} M)を作用させると35%(42/118)で $[Ca^{2+}]_i$ を増加させた。さらに $[Ca^{2+}]_i$ が増加したニューロンの約50%(16/33)がOxtニューロン、70%(18/26)がNesfatin-1ニューロンであった。さらに電気生理学解析においては、AVPはOxtニューロンにおいて静止膜電位および活動電位を増加させた。69%(9/13)のOxtニューロンがAVPにより活動電位が増加した。

PVNにおけるAVPの摂食への作用を明らかにするために、AVP(60 pmol)をPVNに局所投与すると、0.5-24時間において摂食量の低下がみられた。さらに、光刺激による摂食抑制がPVNにおけるAVP作用を介しているかを調べるために、AVP受容体(V1R)阻害剤をPVNに局所投与し、光照射下における摂食量を調べた。光照射により摂食量は低下したが、予めPVNにV1R阻害剤を投与した群においては光照射による摂食量の低下が有意に減弱していた。以上をまとめると、

光照射による摂食抑制メカニズムにおいて、網膜の光情報はSCNのAVPニューロンを活性化させ、投射先のPVNNefatin-1/Oxtニューロンを活性化させることで摂食を抑制していると考えられる。このようにして明期に摂食抑制を惹起することで、摂食リズムを創出している可能性が考えられた。しかし、Nefatin-1の上記神経経路に関して更なる検討が必要である。

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 4 件)

1. Maejima Y, Rita RS, Santoso P, Aoyama M, Hiraoka Y, Nishimori K, Gantulga D, Shimomura K, Yada T. Nasal oxytocin administration reduce food intake without affecting locomotor activity and glycemia with c-Fos induction in limited brain areas. *Neuroendocrinol* 101(1)35-44, 2015.
2. Maejima Y, Sakuma S, Santoso P, Gantulga D, Katsurada K, Ueta Y, Hiraoka Y, Nishimori K, Tanaka S, Shimomura K, Yada T. Oxytocinergic circuit from paraventricular and supraoptic nuclei to arcuate POMC neurons in hypothalamus. *FEBS Lett.* 588(23):4404-12, 2014.
3. Sedbazar U, Ayush EA, Maejima Y, Yada T. Neuropeptide Y and α -melanocyte-stimulating hormone reciprocally regulate nesfatin-1 neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Neuroreport.* 2014 ;25:1453-1458
4. Iwasaki Y, Maejima Y (共同筆頭著者), Suyama S, Yoshida M, Arai T, Katsurada K, Kumari P, Nakabayashi

H, Kakei M, Yada T. (2015)
Peripheral oxytocin activates vagal
afferent neurons to suppress feeding in
normal and leptin-resistant mice: a
route for ameliorating hyperphagia
and obesity. *Am J Physiol Regul
Integr Comp Physiol* 308(5)R360-9.

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔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 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

前島 裕子 (Maejima Yuko)
福島県立医科大学・医学部・腫瘍生体工レ
クトロニクス講座・特任講師
研究者番号：40438669

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

下村 健寿 (SHIMOMURA Kenju)
福島県立医科大学・医学部・腫瘍生体工レ
クトロニクス講座・特任教授
研究者番号： 90636226