

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24790233

研究課題名(和文) In vivo 脳刺激による褐色脂肪細胞の分化誘導

研究課題名(英文) Brown adipose differentiation by in vivo optogenetic stimulation

研究代表者

片岡 直也 (Kataoka, Naoya)

京都大学・生命科学系キャリアパス形成ユニット・研究員

研究者番号：20572423

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：褐色脂肪組織は、熱産生を通じた積極的なエネルギー消費によって肥満の防止に寄与する。交感神経性の熱産生刺激を長期間与えると白色脂肪組織中に誘導型褐色脂肪細胞(brite cell)の分化誘導を促進できることが示唆されている。そこで本研究では、光遺伝学的手法を用いて褐色脂肪の熱産生を制御する延髄の交感神経プレモーター領域を刺激し交感神経性熱産生を亢進させることで、brite cellの分化誘導を促進させることを可能にする技術の確立を試みた。その結果、光刺激により褐色脂肪組織交感神経の活性化を惹起し、それに伴う褐色脂肪組織温度の上昇が観察できた。

研究成果の概要(英文)：In the central regulation of thermogenesis in brown adipose tissue (BAT), sympathetic premotor neurons in the rostral raphe pallidus nucleus (rRPa). Brown adipose, which expresses the thermogenic protein UCP1, provides a defense against cold and obesity, not only in rodents but even in adult humans. Moreover, the appearance of brown-like adipocytes within white adipose tissue depots is associated with improved metabolic phenotypes. In this study, using an optogenetic technique, we examined whether the sympathetic outflow could cause the differentiation of brite cell into the subcutaneous fat. Adeno associated virus (AAV)-mediated delivery of ChIEF gene into rat rRPa resulted in localization of ChIEF proteins in the rRPa neurons. In vivo photostimulation of ChIEF-expressing cell bodies in the rRPa elicited increases in BAT thermogenesis, blood pressure and heart rate.

研究分野：環境生理学 分子細胞生物学

キーワード：褐色脂肪組織 誘導型褐色脂肪組織 光遺伝学 交感神経プレモーターニューロン 延髄縫線核

の分化誘導のために脳内を長期的に光刺激する必要があることから、脳組織への傷害が少なく、比較的弱い光出力でも神経細胞を活性化できる ChIEF を発現させるウイルスベクターを作製した。本ウイルスをラットの rRPa を中心とした交感神経プレモーター領域に注入し、感染したニューロン群が ChIEF を発現することを組織学的に確認した。こうした ChIEF 発現ニューロンに対し、麻酔下で光ファイバーを挿入し、*in vivo* 光照射実験を行った結果、長期的な脳内光刺激が可能な程度の弱い光(5-8 mW)で褐色脂肪組織交感神経の群放電活動の活性化を惹起し、それに伴う褐色脂肪組織温度の上昇ならびに脈拍・血圧の上昇などが観察できた。

本研究計画は自由行動下のラットで長期光照射を行うために LED ワイヤレス光照射装置を用いる計画であったが、業者と開発を進めていたワイヤレス光照射装置では活性化に必要な強度の光を得ることが出来なかったことから、計画を変更し有線での光刺激実験を行うこととした。長期間にわたり自由行動下のラットへ光ファイバーを安定的に挿入し続けるにはカニューレを介した脳内への光ファイバーの挿入と、動物の動きによる光ファイバーのもつれや損傷を防ぐロータリージョイントの設置が不可欠である。しかしながら、光ファイバーを常時接続した状態での飼育は困難が多く、今後も長期の光照射技術の改良を進めていきたい。

覚醒下ラット脳内への長期光照射に伴う brite cell 分化誘導の検討

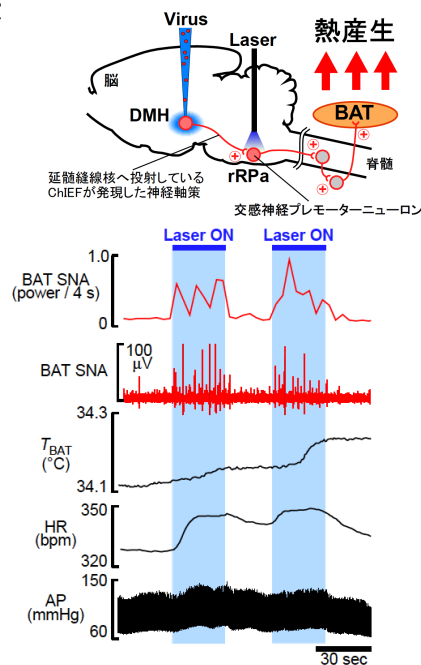
上述の通り、覚醒下のラットに対して長期間の光照射実験を行うには十分な光エネルギーを確保出来ていないことから、光刺激に伴う白色脂肪組織への brite cell 分化誘導の検討には至っていない。しかしながら、光遺伝学を用いて麻酔ラットにおける褐色脂肪組織の熱産生反応や代謝の上昇を惹起させることに成功していることから UCP1 や PPARgamma などの褐色脂肪関連遺伝子発現の定量など、今後の解析を進めていきたい。

本研究で確立した光遺伝学的手法の応用

褐色脂肪組織の熱産生を制御する rRPa の交感神経プレモーターニューロン領域は上位の脳領域からの入力を統合する重要な役割を担っている。また、褐色脂肪組織は寒冷環境中の体温維持のみならず、心理ストレスによって生じるストレス性体温上昇に寄与することが明らかとなっている。我々は以前、心理ストレスが rRPa の交感神経プレモーター領域を活性化することで褐色脂肪熱産生を惹起することを報告した(4)。

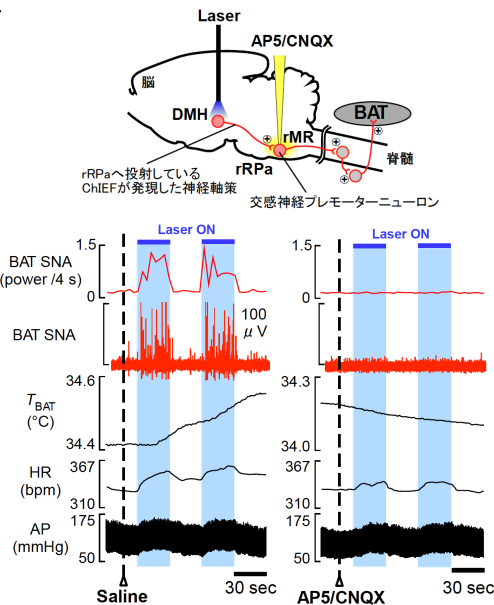
本研究で確立した麻酔ラットに対する光遺伝学的手法を応用し、ストレス反応に關与する DMH から rRPa への直接の神経投射が褐色脂肪熱産生出力を駆動する役割を担っているかを、光遺伝学的手法を用いて検証した。ChIEF を、DMH のニューロンに発現させると、ChIEF は rRPa へ伸びる軸索終末まで運ばれていた。この軸索終末へ光照射を行うと、DMH のニューロンに由来する軸索終末のみを選択的に活性化することができ、それによって褐色脂肪組織交感神経の活性化ならびに褐色脂肪組織の温度上昇、血圧・脈拍の上昇が観察された(図1)。

＜図1＞DMH から rRPa への軸索終末を選択的に光刺激



また、これらの反応はグルタミン酸受容体の拮抗薬である AP5/CNQX を微量注入することにより抑制された(図2)。

＜図2＞DMH から rRPa への軸索終末を選択的に光刺激



これらの結果は、DMH から rRPa の交感神経プレモーターニューロンにグルタミン酸作動性入力を提供していることを示唆しており、この信号によって褐色脂肪熱産生や脈拍の上昇などの交感神経反応が惹起されることが明らかとなった。このグルタミン酸の神経伝達はストレスシグナルによって活性化されることも見出し、DMH から rRPa への経路がストレス性体温上昇に寄与することを世界に先駆けて示した。この研究成果は Cell Metabolism 誌に掲載された(5)。

以上、本研究において確立した光遺伝学的手法を用いて褐色脂肪組織の熱産生反応や代謝の上昇を惹起させることに世界で初めて成功し、さらに、この光遺伝学的手法を応用することで、ストレス性体温上昇を駆動する神経回路を特定することにも成功した。

今後も引き続き、長期光刺激による brite cell の分化誘導実験を継続すると共に、体温調節やエネルギー代謝調節を含めた神経システムの全貌を明らかにしていきたい。

<引用文献>

- Saito *et al.*, *Diabetes* 2009
Nakamura., *Am J Physiol*, 2011
Seale *et al.*, *J Clin Invest*, 2011
Lkhagvasuren *et al.*, *Euro J Neurosci*, 2011
Kataoka *et al.*, *Cell Metab*, 2014

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Naoya Kataoka, Hiroyuki Hioki, Takeshi Kaneko, and Kazuhiro Nakamura

Psychological stress activates a dorsomedial hypothalamus-medullary raphe circuit driving brown adipose tissue thermogenesis and hyperthermia.

Cell Metabolism, **20**, 346-358 (2014)

DOI: 10.1016/j.cmet.2014.05.018

〔学会発表〕(計 10 件)

Social defeat stress-induced hyperthermia involves non-shivering thermogenesis in brown adipose tissues.

片岡直也

Experimental Biology 2012 (San Diego)

社会的敗北ストレスによる高体温は延髄縫線核を介した褐色脂肪熱産生が関与する

片岡直也

平成 24 年度 温熱生理研究会

Social defeat stress-induced hyperthermia involves non-shivering thermogenesis in brown

adipose tissue

片岡直也

第 35 回 日本神経科学大会

Direct projection from the dorsomedial hypothalamus to the rostral medullary raphe drives brown adipose tissue thermogenesis

片岡直也

Experimental Biology 2012 (Boston)

視床下部背内側部から吻側延髄縫線核への興奮性の直接入力は褐色脂肪熱産生を惹起する

片岡直也

第 18 回 アディポサイエンスシンポジウム

視床下部背内側部から吻側延髄縫線核への興奮性の直接入力社会的敗北ストレスによる褐色脂肪熱産生を惹起する

片岡直也

平成 25 年度 温熱生理学会

視床下部背内側部から延髄縫線核への公憤性入力褐色脂肪熱産生を惹起する

片岡直也

第 34 回 日本肥満学会

A direct hypothalamo-medullary for sociopsychological stress-induced brown fat thermogenesis and hyperthermia

片岡直也

第 91 回 日本生理学会大会 (招待講演)

Sociopsychological stress activates hypothalamo-medullary neurons that drive brown adipose tissue thermogenesis and hyperthermia

片岡直也

Experimental Biology 2014 (San Diego)

Search of the limbic and cortical regions involved in psychological stress-induced hyperthermia

片岡直也

第 92 回 日本生理学会大会

〔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 0 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

片岡 直也 (KATAOKA, Naoya)

京都大学・生命科学系キャリアパス形成ユ
ニット・特定研究員

研究者番号：20572423