

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：32202

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790237

研究課題名(和文) 肥満により誘発される不安とうつ症状の脳内機構：PrRPニューロンの働き

研究課題名(英文) The brain mechanism of obesity-induced anxiety and depression: a role of PrRP-synthesizing neurons.

研究代表者

吉田 匡秀 (Yoshida, Masahide)

自治医科大学・医学部・助教

研究者番号：30533955

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：精神的なストレスによってプロラクチン放出ペプチド(PrRP)産生ニューロンが活性化した。精神的なストレス時に生体の恒常性に重要な神経内分泌反応を担う神経回路として、内側扁桃体-延髄PrRP産生ニューロン回路を見出した。摂食によってもPrRP産生ニューロンが活性化し、摂食を抑制する。コレシストキニン-PrRP-オキシトシン回路が摂食一回あたりの食餌量の制御に重要であることが判った。

研究成果の概要(英文)：Emotional stress activated prolactin releasing peptide (PrRP)-synthesizing neurons. The medial amygdala-medullary PrRP-synthesizing neuron pathway was suggested to have an important role for neuroendocrine responses to emotional stress. Food intake activates PrRP-synthesizing neurons and endogenous PrRP has anorexic action. Cholecystokinin-PrRP-oxytocin pathway was suggested to play an important role in the control of the termination of each meal.

研究分野：生理学

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：ストレス プロラクチン放出ペプチド

1. 研究開始当初の背景

プロラクチン放出ペプチド (PrRP) は、下垂体前葉に存在する G タンパク質共役型受容体 GPR10 に対するリガンドとして同定され、プロラクチン放出を促進する神経ペプチドとして報告された。しかし、PrRP は下垂体前葉を制御する他の視床下部ホルモンとは違い、正中隆起に投射するニューロンには発現しておらず、門脈血中には放出されないことが判ってきた。PrRP は脳内において視床下部背内側核、延髄弧束核、延髄腹外側核の 3 カ所に限局して存在していること、延髄に存在する PrRP 産生ニューロンのほぼ全てはチロシン水酸化酵素をもつカテコラミン産生ニューロンであることが報告されていた。しかし、PrRP の生理機能に関しては不明な点が多かった。

(1) PrRP の生理的な機能について、ストレスとの関連を示唆する結果が報告されていた。すなわち、PrRP 産生ニューロンが精神的ストレスである条件恐怖刺激によって活性化すること、強度の強い身体的、精神的ストレスである水浸拘束ストレスにより活性化されること、PrRP 投与によりストレス刺激による反応と同様に ACTH とオキシトシンの放出が起こることが判っていた。しかし、PrRP の生理機能については、不明なままであった。

(2) PrRP が摂食に関連することを示唆する結果が報告されていた。すなわち、PrRP を外来性に投与すると摂食が抑制されること、PrRP 遺伝子欠損マウスは摂食が亢進し、肥満を呈すること、レプチンの作用が減弱すると PrRP の発現が低下することが判っていた。しかし、PrRP がどのように摂食を制御しているのかは判っていなかった。

2. 研究の目的

(1) 本研究の目的は、精神的なストレス反応における PrRP の役割とそれを担う神経回路を明らかにすることであった。

(2) さらに、摂食における PrRP の働きとそれを担う神経回路を明らかにすることであった。

3. 研究の方法

(1) 精神的ストレスの一つである恐怖に対する反応を解析するために、恐怖条件付け学習試験を用いた。条件恐怖刺激によるすくみ行動は画像解析を用いて自動定量化した。また神経内分泌反応としてオキシトシン、ACTH、プロラクチン放出を用いた。各々の血中濃度

は radio immunoassay 法を用いて測定した。内側扁桃体の破壊は NMDA を局所投与することで行った。PrRP 産生ニューロンの活性化は c-Fos タンパク質と PrRP の二重免疫組織化学染色を用いて解析した。これらの方法を用いて①～④までの実験を行った。

恐怖条件付け学習後に、ラット内側扁桃体を破壊し、条件恐怖刺激によるすくみ行動と神経内分泌反応を解析した。

ラット内側扁桃体を破壊し、新奇環境刺激による神経内分泌反応を解析した。

恐怖条件付け学習後に、ラット内側扁桃体を破壊し、条件恐怖刺激による PrRP 産生ニューロンの活性化を解析した。

PrRP 遺伝子欠損マウスを恐怖条件付けし、条件恐怖刺激によるすくみ行動と神経内分泌反応を解析した。

(2) オキシトシン、バゾプレシン産生ニューロンにおける GPR10 の発現はオキシトシン、バゾプレシンと GPR10 との二重免疫組織化学染色を用いて解析した。PrRP によるオキシトシン、バゾプレシンの放出は、単離した視床下部視索上核に PrRP を添加することで解析した。各ホルモンの測定には radio immunoassay 法を用いた。オキシトシン、バゾプレシン産生ニューロンの活性化は c-Fos タンパク質とオキシトシン、バゾプレシンの二重免疫組織化学染色を用いて解析した。摂食一回あたりの食餌量と摂食頻度は自動計測機を用いて定量化した。これらの方法を用いて①～④までの実験を行った。

オキシトシン、バゾプレシン産生ニューロンにおける GPR10 の発現を解析した。

単離した視床下部視索上核を用いて、PrRP によるオキシトシン、バゾプレシン放出への影響を解析した。

野生型マウスにおいて、摂食後のオキシトシン、バゾプレシン産生ニューロンの活性を解析した。

PrRP 遺伝子欠損マウスを用いて、摂食後のオキシトシン産生ニューロンの活性を解析した。

PrRP 遺伝子欠損マウスを用いて、満腹シグナルの一つであるコレシストキニンを投与した時のオキシトシン産生ニューロンの活性を解析した。

オキシトシン受容体遺伝子欠損マウスを用いて、摂食一回あたりの食餌量と摂食頻度を 24 時間解析した。

4. 研究成果

(1) 条件恐怖刺激により、コントロール群においてすくみ行動と神経内分泌反応が観察された。一方、内側扁桃体破壊群では、すくみ行動はコントロール群と同様であっ

たが、神経内分泌反応は有意に減弱していた。
新奇環境刺激により、コントロール群は神経内分泌反応が観察された。内側扁桃体破壊群においても同様に神経内分泌反応が観察された。

条件恐怖刺激により、コントロール群は延髄孤束核、延髄腹外側部に存在する PrRP 産生ニューロンが有意に活性化された。一方、内側扁桃体破壊群では PrRP 産生ニューロンの活性化が有意に減弱していた。

条件恐怖刺激により、野生型マウスにおいてすくみ行動と神経内分泌反応が観察された。一方、PrRP 遺伝子欠損マウスは野生型マウスに比べ、すくみ行動が有意に亢進していた。また PrRP 遺伝子欠損マウスは神経内分泌反応が消失していた。

恐怖反応において、生体の恒常性に重要な神経内分泌反応を担う神経回路は不明であった。本研究により内側扁桃体-延髄 PrRP 産生ニューロン回路が重要であることが判った。

(2) 視床下部室傍核、視索上核のオキシトシン、バゾプレシン産生ニューロンにおいて GPR10 の発現が認められた。

単離した視床下部視索上核に PrRP を添加するとオキシトシン、バゾプレシンの分泌が促進された。

野生型マウスにおいて、摂食後にオキシトシン産生ニューロンが活性化された。

PrRP 遺伝子欠損マウスでは、野生型マウスと比べ、摂食後のオキシトシン産生ニューロンの活性化が減弱していた。

PrRP 遺伝子欠損マウスでは、野生型マウスと比べ、コレシストキニン投与によるオキシトシン産生ニューロンの活性化が減弱していた。

オキシトシン受容体遺伝子欠損マウスの摂食頻度は昼間、夜間ともに野生型と同様であった。一方、摂食一回あたりの食餌量は夜間において増加していた。

コレシストキニン A 受容体遺伝子欠損および PrRP 遺伝子欠損マウスにおいても摂食一回あたりの食餌量が増加することから、コレシストキニン-PrRP-オキシトシン経路が一回の食餌量の制御に重要であることが判った。

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 2 件)

Yoshida M, Takayanagi Y, Onaka T: The medial amygdala - medullary

PrRP-synthesizing neuron pathway mediates neuroendocrine responses to contextual

conditioned fear in male rodents.

Endocrinology, in press

Yamashita M, Takayanagi Y, Yoshida M,

Nishimori K, Kusama M, Onaka T:

Involvement of prolactin-releasing peptide in the activation of oxytocin neurones in response to food intake. Journal of neuroendocrinology, 25 455-465 2013
DOI 10.1111/jne.12019.

[学会発表](計 3 件)

Yoshida M, Takayanagi Y, Onaka T: The medial amygdala-medullary prolactin-releasing peptide neuron pathway mediates neuroendocrine responses to conditioned fear stimuli. The 10th World Congress on Neuro- hypophysial Hormones (WCNH 2013) 2013年7月5日 イギリス

尾仲達史、高柳友紀、山下雅子、吉田匡秀:

PrRP-オキシトシン系とリズム

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業シンポジウム 2013 2013年6月28日 日本

Yoshida M, Takayanagi Y, Onaka T :

Importance of the medial amygdala-medullary PrRP synthesizing neurons pathway in neuroendocrine responses to conditioned fear stimuli. Neuro2013 2013年6月20日 日本

[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：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

<http://www.jichi.ac.jp/usr/pys1/admpys1/>

6．研究組織

(1)研究代表者

吉田 匡秀 (MASAHIDE YOSHIDA)
自治医科大学・医学部・助教
研究者番号：30533955