

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：12301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25870666

研究課題名(和文) 視床下部の摂食代謝中枢におけるFTOの生理的病態的役割の解明

研究課題名(英文) Role of FTO in energy homeostasis

## 研究代表者

河野 大輔 (Kohno, Daisuke)

群馬大学・先端科学研究指導者育成ユニット・助教

研究者番号：10382904

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：FTOは、肥満と関係するRNA脱メチル化酵素である。本研究ではFTOの脳における分布と脳における生理的役割を調べた。FTOは脳の広い範囲に分布していた。FTOは神経細胞特異的に分布しており、視床下部弓状核のNPYニューロンやPOMCニューロンに高い割合で発現していた。視床下部摂食代謝中枢の一領域である視床下部腹内側核におけるFTOの役割を調べたところ、エネルギー消費の調節に重要な役割を果たしていることが明らかになった。これらのことから、FTOが神経細胞に広く分布し、視床下部摂食代謝中枢においてエネルギー恒常性の制御に重要な役割を果たしていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Fat mass and obesity associated (FTO) gene is highly associated with obesity, and its product, the FTO protein, is an N6-methyl-adenosine RNA demethylase. In this study, we examined the distribution of FTO-expressing cells in the brain by in situ hybridization and X-gal staining of FTO-lacZ mice. We also examined the role of FTO in the ventromedial hypothalamus (VMH) using the VMH-specific FTO deletion mice. FTO was widely expressed in most brain areas. All FTO-lacZ expressing cells were neuronal marker, NeuN, positive. FTO was highly colocalized with NPY and POMC neurons in the hypothalamic arcuate nucleus. VMH-specific FTO deletion mice had increased energy expenditure compared to control mice. These data suggest that FTO is widely distributed in neurons and plays an important role in hypothalamic feeding center neurons.

研究分野：生理学

キーワード：FTO 視床下部

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 肥満は、日本を含めた世界の多くの地域で増加しており、生活習慣病の増加の原因となっている。これまでの我々を含めた多くの研究から、視床下部摂食代謝中枢が食欲や熱産生を調節することにより、全身のエネルギーバランスを制御する役割を担っていることが明らかになってきた。特に、視床下部弓状核とその投射先の視床下部室傍核、そして、満腹中枢として古くから知られている視床下部腹内側核は、摂食代謝調節において中心的な役割を担っている。一方で、視床下部摂食代謝中枢によってエネルギーバランスが一定に保たれ、体重は正常に維持されるはずであるが、エネルギーバランスが崩れ肥満発症が起こる機構は明らかではない。また、肥満の発症や増加に食事や運動などの環境要因が関与していることが推測されているが、環境要因がエネルギー恒常性に影響を与える分子機序は明らかではない。

(2) Fat Mass and Obesity Associated (FTO) 遺伝子は、肥満と相関の高い一塩基多型を持つ遺伝子である(文献1)。FTOの一塩基多型とFTOの発現の関係は、いまだ不明な点が多いが、FTOの全身性欠損マウスが痩せの表現型を呈し(文献2)、FTOの過剰発現マウスが肥満の表現型を呈する(文献3)ことから、FTO遺伝子の転写産物が体重の調節に重要な役割を果たしていると考えられている。また、神経特異的なFTO欠損マウスが全身性のFTO欠損マウスに類似した痩せの表現型を呈する(文献4)ことから、脳におけるFTOが体重の調節に重要な役割を果たしていると考えられる。FTOタンパクは、RNAの脱メチル化酵素として機能することが報告されている(文献5)。RNAの脱メチル化は後天的な遺伝子の調節機構、エピジェネティクスの一つであり、環境応答機構として働いている可能性もある。

## 2. 研究の目的

そこで我々は脳、特に視床下部摂食代謝中枢のFTOに焦点を当て、以下の項目を明らかにすることを目的とした。

(1) FTOは、脳において、如何なる領域に発現しているか。

(2) FTOは、視床下部摂食代謝中枢において如何なる生理的役割を持つか。

## 3. 研究の方法

(1) FTO in situ ハイブリダイゼーションおよびFTO-LacZマウスのX-gal染色により、FTOの脳内における詳細な分布を調べた。さらに、神経細胞マーカーや既存の神経ペプチ

ドとの共局在を、免疫組織化学やGFPマウスとX-gal染色を併用して検討した。

(2) FTO flox マウスと、視床下部腹内側核にCreを発現するSF1-Creマウスを掛け合わせて、視床下部腹内側核特異的FTO欠損マウスを作製した。体重、摂食量、酸素消費量、行動量の測定、ブドウ糖負荷試験、インスリン負荷試験を行った。

## 4. 研究成果

(1) FTO in situ ハイブリダイゼーションおよびFTO-LacZマウスのX-gal染色は、類似した染色結果を示したことから、両染色が正しくFTOの発現部位を反映していると考えられた。脳の広い領域にFTO陽性染色を認めた。特に、海馬、大脳皮質や視床下部弓状核、腹内側核、室傍核、視索上核などの視床下部神経核において豊富な発現が観察された。

FTOが発現している細胞の種類を明らかにするために、神経細胞マーカーのNeuNの免疫組織化学とX-gal染色との二重染色を行ったところ、FTOのX-gal陽性染色はNeuN免疫陽性細胞のみに観察された。したがって、FTOは神経細胞にのみ発現していることが明らかになった。

視床下部摂食代謝中枢において中心的な神経核である視床下部弓状核および室傍核における神経伝達物質との共局在をX-gal染色および免疫組織化学もしくはGFP発現との共局在により検討した。視床下部弓状核において、FTOはNPY、POMCと高い割合で共局在していることが明らかになった。また、NUCB2およびチロシン水酸化酵素の免疫陽性細胞の約半数にFTOの分布が確認された。一方、視床下部室傍核においては、TRHと高い割合で共局在していることが明らかになった。また、オキシトシン、バソプレシン、NUCB2との共局在も確認された。

(2)(1)の結果により、FTOが豊富に発現している領域のひとつに腹内側核があることが明らかになった。また、腹内側核におけるFTO生理的役割はいまだ明らかになっていない。そこで我々は、腹内側核特異的FTO欠損マウス(FTO<sup>lox/lox</sup>/SF1-Creマウス)を作製し、in vivo表現型を解析した。腹内側核特異的FTO欠損マウスの体重は、コントロールマウス(FTO<sup>lox/lox</sup>マウス)と比較して、普通食および高脂肪食負荷条件下において、有意な違いはなかった。腹内側核特異的FTO欠損マウスのエネルギー摂取とエネルギー消費の状態を調べるために、摂食量、酸素消費量、行動量を調べた。腹内側核特異的FTO欠損マウスの摂食量は、普通食下においてコントロールマウスと比較して増加傾向があった。一方、腹内側核特異的FTO欠損マウスの酸素消

費量は、コントロールマウスと比較して夜間に有意に増加していた。腹内側核特異的 FT0 欠損マウスの行動量は、コントロールマウスと比較して有意な違いは見られなかった。

FT0 の全身性の欠損マウスは痩せの表現型を呈し、体重当たりの摂食量の増加および酸素消費量の増加、行動量の減少を呈することが報告されている(文献2)。全身性 FT0 欠損マウスで認められる摂食量の増加および酸素消費量の増加は、本研究の結果から、視床下部腹内側核に発現する FT0 により少なくとも一部は引き起こされている可能性がある。一方で、全身性 FT0 欠損マウスで認められる行動量の低下は、視床下部腹内側核に発現する FT0 によって引き起こされているわけではないと考えられる。

さらに視床下部腹内側核 FT0 の血糖調節における役割を検討した。グルコース負荷試験を行ったところ、グルコース投与後の血糖値は、腹内側核特異的 FT0 欠損マウスにおいてコントロールマウスと比較して低下の傾向が見られた。腹内側核の SF1 ニューロンは、交感神経を介したグルコース取込みの亢進に関係しており、耐糖能の調節に働くことが報告されている(文献6)。SF1 ニューロンにおける FT0 は、同様の機序を介して耐糖能を調節している可能性がある。

以上の事から、本研究により FT0 が神経細胞に広く発現しており、特に、視床下部摂食代謝中枢の NPY、POMC ニューロンなどに豊富に発現していることが明らかになった。さらに、視床下部摂食代謝中枢においてエネルギー恒常性の制御に重要な役割を果たしていることが示唆された。

#### <引用文献>

1. Walley AJ, Asher JE, Froguel P. The genetic contribution to non-syndromic human obesity. *Nat Rev Genet.* 2009 Jul;10(7):431-42
2. Fischer J, Koch L, Emmerling C, Vierkotten J, Peters T, Brüning JC, Rüther U. Inactivation of the Fto gene protects from obesity. *Nature.* 2009 Apr 16;458(7240):894-8
3. Church C, Moir L, McMurray F, Girard C, Banks GT, Teboul L, Wells S, Brüning JC, Nolan PM, Ashcroft FM, Cox RD. Overexpression of Fto leads to increased food intake and results in obesity. *Nat Genet.* 2010 Dec;42(12):1086-92.

4. Gao X, Shin YH, Li M, Wang F, Tong Q, Zhang P. The fat mass and obesity associated gene FT0 functions in the brain to regulate postnatal growth in mice. *PLoS One.* 2010 Nov 16;5(11):e14005.
5. Jia G, Fu Y, Zhao X, Dai Q, Zheng G, Yang Y, Yi C, Lindahl T, Pan T, Yang YG, He C. N6-methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FT0. *Nat Chem Biol.* 2011 Oct 16;7(12):885-7.
6. Kim KW, Donato J Jr, Berglund ED, Choi YH, Kohno D, Elias CF, Depinho RA, Elmquist JK. FOXO1 in the ventromedial hypothalamus regulates energy balance. *J Clin Invest.* 2012 Jul;122(7):2578-89.

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

(現在論文発表準備中)

〔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 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  
[http://asr1du.dept.med.gunma-u.ac.jp/dk/ohno/daisuke\\_kohno.html](http://asr1du.dept.med.gunma-u.ac.jp/dk/ohno/daisuke_kohno.html)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

河野 大輔 (KOHNO, Daisuke)

群馬大学・先端科学研究指導者育成ユニット・助教

研究者番号： 10382904