

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：32713

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26860162

研究課題名(和文) 視床下部NPYニューロンのGPERを介した代謝調節作用

研究課題名(英文) Study On Glucose Metabolism Via G-protein-Coupled Estrogen Receptor 1 Expression In The Hypothalamus

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：10442716

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：視床下部NPYニューロンはGPERを介して代謝調節に関与しているか否かを検討した。GPERの代謝調節作用を明らかにするために、選択的GPERアゴニストであるG1を、卵巣摘除ラットに投与した。その結果、G1は末梢組織に対して作用を及ぼさなかったが、耐糖能を低下させた。G1は中枢神経系に作用し、作用点は視床下部のNPYであると考え、NPY-Venusマウスを用いてGPERとの共局在を検討した結果、mVenus陽性NPYニューロンの大部分はGPER陽性細胞である事を確認した。以上の結果より、GPERを介した系は、耐糖能を改善する機序がNPYニューロンを介して存在する可能性があることが推察された。

研究成果の概要(英文)：The present study was carried out to see possible involvement of G-protein-coupled estrogen receptor 1 (GPER, GPR30) in NPY neurons to glucose metabolism. Rats were ovariectomized and were primed with the silicone tube containing cholesterol or GPER selective agonist G1. Firstly, we revealed that G1 agonist did not have estrogenic action in reproductive system. Glucose tolerance test was worsened by G1 treatment in rats. In high fat fed mice, glucose tolerance was affected by G1 dose depending manner. These results suggested that GPER affect glucose metabolism in a manner different from via estrogen receptor- and through NPY neurons. Since NPY neurons were identified by mVenus under fluorescent microscopy and this transgenic mice were expressed the human interleukin 2 receptor alpha subunit (IL-2R alpha) under the control of the NPY gene promoter. Thus treatment immunotoxin ablates conditionally NPY neurons.

研究分野：生理学

キーワード：ニューロペプチドY GPER エストロゲン 視床下部 GPR30 G1 G15

1. 研究開始当初の背景

エストロゲンは、生殖内分泌調節機能の他に、インスリン感受性を亢進し耐糖能を改善し(代謝調節) 同時に、摂食行動を抑制する(摂食行動調節) ことが良く知られていた(Musatov et al, 2007; Eckel 2011)。しかし、近年の研究成果から、エストロゲンは視床下部弓状核 Neuropeptide Y (NPY) ニューロンを介して室傍核のニューロンに作用し、交感神経系を刺激することにより末梢のインスリン分泌を抑制し、インスリン抵抗性を惹起することが明らかにされた(代謝調節) (van den Hoek et al, 2008; Liu et al 2012; Yi et al, 2012; Shi et al, 2013)。この矛盾は、エストロゲンの末梢作用と中枢作用の複雑さに一因がある。末梢の基礎代謝が増加すれば、摂食量が同じなら痩せる。また、雌性動物においては、NPY ニューロンから見ると、エストロゲンの摂食行動調節と生殖内分泌作用は相反するよう見える。それは、エストロゲンは、弓状核 NPY ニューロンを抑制して摂食行動を減弱させるが、逆に、弓状核 NPY ニューロンを刺激し生殖機能を促進するからである。これは、エストロゲン受容体(ER) / 比が弓状核 NPY ニューロンによって異なるからとする仮説がある(Acosta-Martinez et al, 2007)が、弓状核 NPY ニューロンは ER を発現していないという報告もある(Olofsson et al, 2009)。他の、例えば摂食抑制作用を持つ Pro-opiomelanocortin (POMC) ニューロンの関与を当然考慮する必要があるが、代謝調節には関与していないと報告された(Xu et al, 2011)

2. 研究の目的

視床下部弓状核 NPY ニューロンのエストロゲンによる調節の機能的な多面性(代謝調節機能、摂食行動調節機能、生殖内分泌調節機能など)を明らかにするために、平成 26 年度からの 2 年間は、NPY ニューロンの一つは GPER を発現して代謝調節機能に関与している、という仮説を明らかにする。GPER 選択的なアゴニスト、アンタゴニストを中枢に投与して、(1) 末梢のグルコース代謝、(2) 視床下部弓状核 NPY ニューロンの電気生理、(3) 各組織の遺伝子発現、を解析する。最終的に(4) NPY ニューロンの選択的な破壊マウスを用いて、仮説を傍証する。

3. 研究の方法

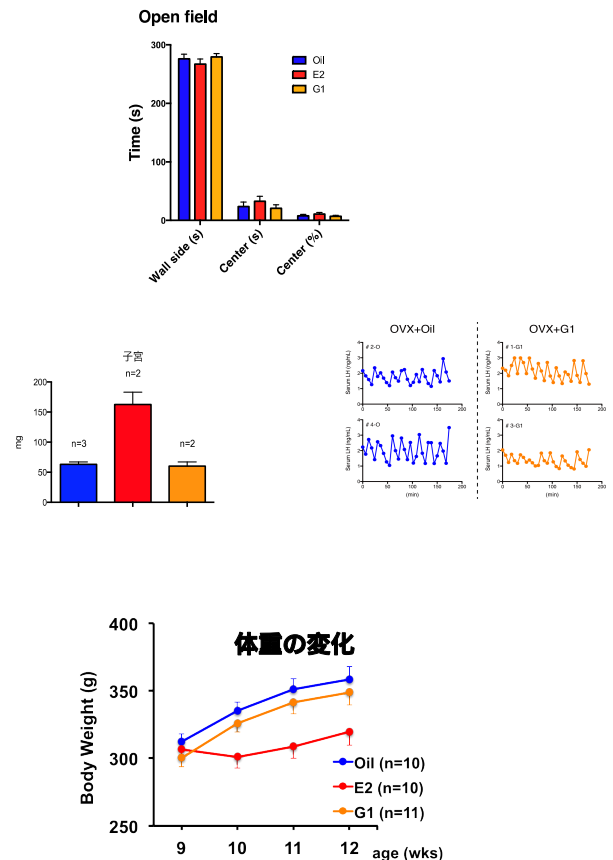
(1) 平成 26 年度は、まず初めに GPER の代謝調節作用を検討した。GPER の選択的なアゴニストである G1 を、卵巣摘除したラットに投与し、G1 による GPER を介した代謝調節作用(子宮重量・情動行動・基礎代謝量・耐糖能)について検討した。

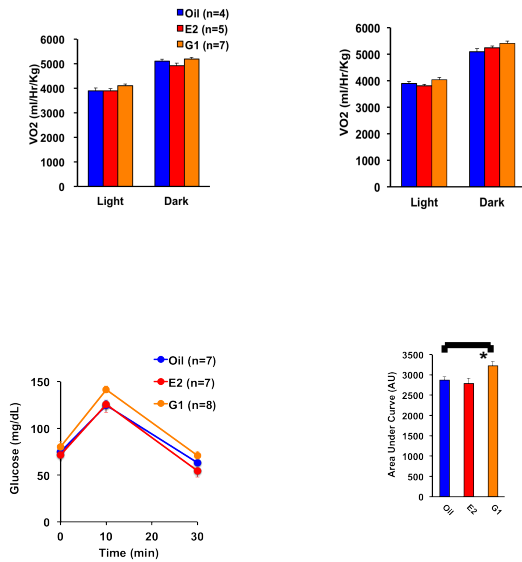
(2) 平成 27 年度は、C57BL/6J-TG(npy-IL2RA/mVenus) 984-2 Koba マウス

(以下 NPY-Venus) の視床下部弓状核における NPY ニューロンは mVenus の蛍光を発光するのみならずイムノトキシン投与によりその細胞体を選択的に破壊できる。そこで、まず、mVenus と NPY ニューロンの同定を in situ Hybridization 法を用いて行った。次に、GPER 抗体を用いて、免疫染色法により mVenus 陽性 NPY ニューロンとの共局在を検討した。次に、耐糖能に対する GPER の役割を検討するために、G1 を卵巣摘除し高脂肪食を 3 週間給餌した雌性マウスに末梢投与した。

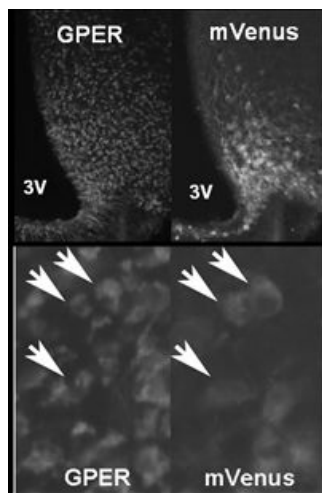
4. 研究成果

(1) その結果、女性ホルモンであるエストロゲンを投与したときに観察されるような行動様式、子宮重量及び血中黄体形成ホルモン(LH) 分泌、体重変化、酸素消費量にも及ぼさなかった。これらのことから、G1 は、末梢組織に対する作用はないと考えられた。しかし、G1 は、グルコース投与による耐糖能を低下させた。これらのことから、G1 は中枢神経系に作用し、その作用点は、視床下部に存在する NPY であると考えた(下図)。



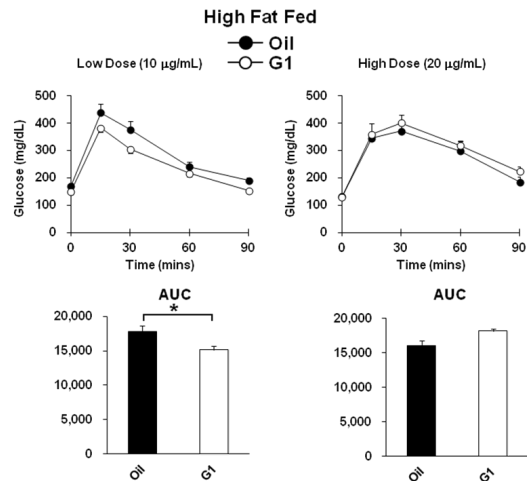


(2) *in situ* Hybridization 法を用いた検討より、mVenus の蛍光細胞の約 90%以上は NPY ニューロンであることを確認した。すなわち、mVenus 陽性なら NPY ニューロンと言えることが明らかになった。次に、GPER 抗体を用いて、免疫染色法により mVenus 陽性 NPY ニューロンとの共局在を検討した。その結果、視床下部弓状核にある mVenus 陽性 NPY ニューロンの約 80%は GPER 陽性細胞である



事がわかった (左図、上段右弱拡参照)。そして、GPER 受容体の免疫蛍光と mVenus の蛍光は重なっていた (左図、上段弱拡、下段強拡、矢印は同じ細胞)。

次に、耐糖能に対する GPER の役割を検討するために、G1 を卵巣摘除し高脂肪食を 3 週間給餌した雌性マウスに末梢投与した。その結果、G1 の容量依存的に耐糖能に影響する可能性を発見した。(下図参照)。



以上の結果より、GPER を介した系は、体重や摂食量に影響を及ぼさないで耐糖能を改善する機序が NPY ニューロンを介して存在する可能性があることが推察された。

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 3 件)

1. Ketogenic diet dose not impair spatial ability controlled by the hippocampus in male rats. Fukushima A, Ogura Y, Furuta M, Kakehashi C, Funabashi T, Akema T. **Brain Res**, 2015; 23:36-42. **査読有**
2. Sex differences in feeding behavior in rats: the relationship with neuronal activation in the hypothalamus. Fukushima A, Hagiwara H, Fujioka H, Kimura F, Akema T, Funabashi T. **Front Neurosci**. 2015;9:88. **査読有**
3. Expression of phosphorylated cyclic AMP response element-binding protein in melanin-concentrating hormone neurons and orexin neurons in male and female rats during ad-libitum feeding. Fukushima A, Hagiwara H, Yoshioka N, Kimura F, Akema T, Funabashi T. **Neuroreport**. 2014;25:766-70. **査読有**

〔学会発表〕(計 12 件)

：福島篤、萩原裕子、明間立雄、船橋利也
「肝臓の PDGFRα 系を介した STAT5 のリン酸化は高脂肪食による肥満と糖耐性の低下に關与する」第 93 回日本生理学会、2016 年 3 月 22~24 日、札幌コンベンションセンター (北海道・札幌市)

：福島篤、萩原裕子、船橋利也、明間立雄
「絶食によりマウス視床下部のオリゴデントロサイト前駆細胞の PDGFRα を介したシグナルは刺激されるが、高脂肪食によりこの調節系が障害される」第 42 回日本神経内分泌学会学術集会、2015 年 9 月 18-19 日、仙台市戦災復興記念会館 (宮城県・仙台市)

：福島篤、萩原裕子、母家真祐子、船橋利也、明間立雄「絶食によりマウス視床下部のオリゴデンドロサイト前駆細胞の PDGFRa を介したシグナルは刺激されるが、高脂肪食によりこの調節系が障害される」第 92 回日本生理学会、2015 年 3 月 22 日、神戸国際会議場（兵庫県・神戸市）

：福島篤、萩原裕子、藤岡仁美、船橋利也、明間立雄「絶食時に視床下部のミクログリアが PDGFR-a を介して摂食調節に関する仮説」第 41 回日本神経内分泌学会、2014 年 10 月 31 日、都道府県会館（東京都・千代田区）

：Fukushima A, Funabashi T, Akema T. Study on Glucose Metabolism via G-Protein-Coupled Estrogen Receptor 1 Expression In The Hypothalamus. 8th International Congress of Neuroendocrinology 2014. 2014 年 8 月 18 日. Sydney, Australia.

：福島篤、船橋利也、古田都、藤岡仁美、小倉裕司、明間立雄「エストロゲンの細胞膜エストロゲン受容体 GPER を介した摂食調節機構に関する研究」第 32 回内分泌代謝学サマーセミナー、2014 年 7 月 11 日、富士レークホテル(山梨県・都留郡)

〔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

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：10442716

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：