

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：32202

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861747

研究課題名(和文) 摂食による抗不安作用：PrRP-オキシトシン回路仮説の検証

研究課題名(英文) Anxiolytic actions of food intake : roles of activation of the PrRP neuron
-oxytocin neuron pathway

研究代表者

山下 雅子 (Yamashita, Masako)

自治医科大学・医学部・臨床助教

研究者番号：70569946

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：摂食により視床下部のオキシトシン産生ニューロンは活性化された。摂食による視床下部オキシトシン産生ニューロンの活性化はプロラクチン放出ペプチド欠損動物で減弱していた。摂食すると末梢にコレシストキニンが放出され、末梢のコレシストキニン投与によりオキシトシン産生ニューロンが活性化される。コレシストキニンを末梢投与した際のオキシトシン産生ニューロンの活性化も、プロラクチン放出ペプチド欠損動物で減弱していた。オキシトシンにはストレス緩和作用がある。従って、摂食により延髄のプロラクチン産生ニューロンが活性化され、結果オキシトシン産生ニューロンが活性化されることで抗ストレス作用をもたらす可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Food intake activated oxytocin neurones in the hypothalamus. Activation of oxytocin neurons in the hypothalamus in response to food intake was impaired in PrRP-deficient mice. Food intake facilitates peripheral CCK release. Peripheral administration of CCK activates oxytocin neurons. Activation of oxytocin neurons following peripheral CCK administration was also significantly reduced in PrRP-deficient mice. Oxytocin neurons have been shown to have anti-stress actions. Activation of the PrRP neuron-oxytocin neuron pathway following food intake may contribute to anxiolytic actions of food intake.

研究分野：口腔外科

キーワード：オキシトシン プロラクチン産生ニューロン 摂食 ストレス

1. 研究開始当初の背景

咀嚼・摂食したときに得られる満腹感には、血中ホルモン(グレリン濃度低下、インスリン濃度上昇)、腸管からの信号、血中栄養素(グルコース、脂質)により得られる。なかでも、腸管から血中に放出されるコレシストキニン重要である。コレシストキニンは、腸管内に脂肪が入ると血中へと放出され、腹部迷走神経に作用し、延髄弧束路核のプロラクチン放出ペプチド産生ニューロンを活性化させる。そして、視床下部の満腹中枢を刺激し摂食を終了させると考えられている。

解剖学的に延髄のプロラクチン放出ペプチド産生ニューロンは視床下部に投射していると言われている。しかし、延髄弧束路核のプロラクチン放出ペプチド産生ニューロンの下流については不明であった。

一方、摂食するとストレス反応が減弱するといわれている。しかし、その機序については不明な点が多い。一方、摂食するとオキシトシン放出が促進すること、オキシトシンを投与すると不安行動が減弱することが知られている。以上より、摂食によるストレス緩和作用にはオキシトシンが関与している可能性がある。

即ち、摂食すると腸管からのホルモンが腹部迷走神経に作用し、延髄弧束路核のプロラクチン放出ペプチド産生ニューロンを活性化させる。そして、活性化されたプロラクチン放出ペプチド産生ニューロンがオキシトシン産生ニューロンに作用し、摂食を終了させる一方で、ストレス反応を抑制する可能性がある。

2. 研究の目的

ストレスと肥満は、口腔疾患の増悪因子である。摂食によりストレス反応が緩和される。しかし、その神経機構は不明な点が多い。

オキシトシンにはストレス緩和作用がある。そこで、本研究では、摂食すると、延髄プロラクチン放出ペプチド産生ニューロン視床下部オキシトシン産生ニューロン回路が賦活化されるかを検証した。

3. 研究の方法

咀嚼・摂食により、末梢コレシストキニン-延髄プロラクチン放出ペプチド産生ニューロン視床下部オキシトシン産生ニューロン系の賦活化が起きるかを検証することを目的とした。このため、まず、マウスの咀嚼・摂食の実験系を用いて、摂食により活性化されるオキシトシン産生ニューロンを同定した。次に、この活性化がプロラクチン放出ペプチドを介するのかがプロラクチン放出ペプチド欠損動物を用いて検証した。

さらに、コレシストキニンを末梢投与し、摂食時と同様に、延髄プロラクチン放出ペ

チド産生ニューロン視床下部オキシトシン産生ニューロン系の賦活化が起きるかを検証した。

摂食によるオキシトシン産生細胞の活性化の検討

摂食によりオキシトシン産生ニューロンが活性化されるかを明らかにする目的で、野生型マウスの雄に 19:30 から 24 時間の絶食負荷を加えた。再摂食群では絶食 24 時間後の暗期開始時刻である 19:30 から 2 時間の再摂食をさせた。その後、深麻酔下に 4%緩衝パラフォルムアルデヒド液を 15 分間経心的に灌流し、脳組織を固定した。脳を頭蓋骨から取り出し、4%緩衝パラフォルムアルデヒド液にて 1 日間、後固定し、さらに 30%緩衝スクロース液に脳が沈むまで入れた。脳は、凍結し - 80 に保存した。視床下部を含む領域を厚さ 30 μm でスライスし、神経活動の指標である Fos タンパク質とオキシトシンに対する二重免疫染色を行った。

視床下部と分界条床核のオキシトシン産生細胞における Fos タンパク質の発現の割合を計測し検討した。

プロラクチン放出ペプチド欠損マウスにおける摂食に対するオキシトシン産生ニューロンの活性化の検討

摂食によるオキシトシン産生細胞の活性化が、プロラクチン放出ペプチドに依存するのかを明らかにする目的で、プロラクチン放出ペプチド欠損マウスにおけるオキシトシン産生細胞の活性化を検討した。

プロラクチン放出ペプチド欠損マウスの雄に 19:30 から 24 時間の絶食負荷を加えた。再摂食群では絶食 24 時間後の暗期開始時刻である 19:30 から 2 時間の再摂食をさせた。その後、深麻酔下に 4%緩衝パラフォルムアルデヒド液を 15 分間経心的に灌流し、脳組織を固定した。脳を頭蓋骨から取り出し、4%緩衝パラフォルムアルデヒド液にて 1 日間、後固定し、さらに 30%緩衝スクロース液に脳が沈むまで入れた。脳は、凍結し - 80 に保存した。視床下部を含む領域を厚さ 30 μm でスライスし、神経活動の指標である Fos タンパク質とオキシトシンに対する二重免疫染色を行った。

視床下部と分界条床核のオキシトシン産生細胞における Fos タンパク質の発現の割合を計測し検討した。

プロラクチン放出ペプチド欠損マウスにおける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の検討

摂食すると腸管からコレシストキニンが血中に放出され、腹部迷走神経を活性化することにより、延髄のプロラクチン放出ペプチド産生ニューロンが活性化される。コレシストキニンを投与すると視床下部オキシトシン産生細胞も活性化される。従って、コレシ

ストキニンによるオキシトシン産生ニューロンの活性化は、プロラクチン放出ペプチド産生ニューロンを介する可能性がある。そこで、次に、コレシストキニンの投与によるオキシトシン産生ニューロンの活性化がプロラクチン放出ペプチド産生ニューロンを介するかどうかを明らかにする目的で、プロラクチン放出ペプチド欠損マウスではコレシストキニンを投与した時のオキシトシン産生細胞の活性化が阻害されているかを検討した。

プロラクチン放出ペプチド欠損マウスとその兄弟の野生型マウスの雄に、コレシストキニンあるいは vehicle(0.9% NaCl)を腹腔内に投与し、2 時間後に麻酔し、同様に脳組織を灌流固定、凍結し、Fos タンパク質とオキシトシンに対する二重免疫染色を行った。視床下部と分界条床核のオキシトシン産生細胞における Fos タンパク質の発現を検討した。

4. 研究成果

摂食によるオキシトシン産生細胞の活性化

摂食させることにより視床下部の室傍核、視索上核、分界条床核における Fos タンパク質を発現するオキシトシン産生細胞の割合は有意に増加していた。摂食することで、視床下部と分界条床核のオキシトシン産生細胞が活性化されることが示唆された。

プロラクチン放出ペプチド欠損マウスにおける摂食に対するオキシトシン産生ニューロンの活性化の検討

プロラクチン放出ペプチドを欠損しているマウスでは、再摂食させたときの視床下部室傍核、視索上核、分界条床核におけるオキシトシン産生細胞の Fos タンパク質の発現が野生型マウスと比べて有意に減少していた。オキシトシン産生細胞の総数はプロラクチン放出ペプチド欠損マウスと野生型マウスとで有意な差はなかった。これらのデータから、プロラクチン放出ペプチドは食物摂取によるオキシトシン産生細胞の活性化の少なくとも一部を担っていることが示唆された。

プロラクチン放出ペプチド欠損マウスにおける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の検討

野生型の動物の腹腔内に、コレシストキニンを投与すると、視床下部室傍核、視索上核、分界条床核の Fos タンパク質を発現するオキシトシン産生細胞の割合が上昇した。しかし、プロラクチン放出ペプチド欠損マウスでは、コレシストキニンの投与により Fos タンパク質を発現するオキシトシン産生細胞の割合は、野生型マウスと比べ有意に減少していた。

以上のデータより、摂食をさせることで視床下部と分界条床核のオキシトシン産生ニ

ューロンが活性化されることが確認された。さらに、この摂食による視床下部と分界条床核のオキシトシン産生ニューロンの活性化はプロラクチン放出ペプチド欠損動物において減弱していた。また、満腹シグナルの一つである腸管から放出される腸ペプチドのコレシストキニンをプロラクチン放出ペプチド欠損動物に投与したところ、プロラクチン放出ペプチド欠損動物において摂食と同様にオキシトシン産生ニューロンの活性化が減弱していた。これらのデータは、摂食する、あるいは、コレシストキニンの投与により延髄のプロラクチン産生ニューロンが活性化され、その結果、オキシトシン産生ニューロンが活性化されることを示唆している。

摂食をすると、腸管から満腹ホルモンであるコレシストキニンが放出され、延髄弧束路核のプロラクチン放出ペプチド産生ニューロンを活性化する。そして、活性化されたプロラクチン放出ペプチド産生ニューロンは視床下部室傍核、視索上核、分界条床核のオキシトシン産生ニューロンを活性化することが明らかとなった。オキシトシンには抗ストレス作用があることから、摂食により、延髄プロラクチン放出ペプチド産生ニューロン視床下部オキシトシン産生ニューロン回路が賦活化がされ、その結果、ストレス反応が緩和される可能性がある。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕
該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山下雅子 (YAMASHITA, Masako)
自治医科大学 医学部 歯科口腔外科学講座
病院助教
研究者番号: 70569946

(2) 研究分担者

該当者なし

(3)連携研究者
該当者なし

(4)研究協力者
尾仲達史 (ONAKA, Tatsushi)
自治医科大学 医学部 生理学講座 神経脳
生理学部門