

S 18-3

食餌嗜好性に及ぼす視床下部 AMP キナーゼの調節作用

自然科学研究機構生理学研究所発達生理学研究室
殖・内分泌系発達機構研究部門

岡本 士毅, 箕越 靖彦

視床下部は、動物個体のエネルギー代謝を自律的に調節している。近年、視床下部の AMP キナーゼ (AMPK) が、レプチンやグルコースなどのシグナル分子として摂食行動を調節することが明らかとなった。しかし視床下部の AMPK 活性を長期的に変化させることによって、摂食行動、エネルギーバランスにどのような影響を及ぼすのか、また AMPK が食餌嗜好性にどのような調節作用を営むかは明らかとなっていない。そこで本研究では、活性型 AMPK をコードするレンチウイルスベクターをマウス視床下部に接種して活性型 AMPK を持続的に発現させ、感染マウスの体重変動と摂食行動に及ぼす影響を調べた。

視床下部室傍核 (PVN) に活性型 AMPK を発現させたマウスは過食となり、肥満した。また通常食に含まれるコーンスターチの代わりに蔗糖を多く含む食餌 (高蔗糖食) を与えても過食となった。ところが、高脂肪食を与えると対照群は過食となるにも関わらずこのマウスは過食とならなかった。そこで、PVN の AMPK が食餌嗜好性を調節する可能性を考え、二種類の食餌を選択、摂食できるケージを考案し自由摂食させた。その結果、活性型 AMPK 発現群は高蔗糖食を多く摂食し、高脂肪食の摂食量が低下していた。視床下部における mRNA 発現変動を調べると、活性型 AMPK 発現群の PVN において選択的に脂肪酸酸化関連遺伝子群が上昇し、AMPK の下流分子であり脂肪酸酸化を調節するアセチル CoA カルボキシラーゼのリン酸化も亢進していた。さらに *ex vivo* において PVN における脂肪酸酸化も亢進していた。そこでミトコンドリアへの脂肪酸取り込みに関与する酵素 CPT 1 のインヒビター、etomoxir を PVN に前投与して嗜好性に及ぼす影響を調べた。その結果、嗜好性は完全に逆転し、高脂肪食を多く摂食した。さらに、PVN での AMPK 活性が上昇する 24 時間の絶食後、メラノコルチン受容体アンタゴニスト SHU 9119、AGRP 投与によっても高蔗糖食を多く摂食した。これらの反応も etomoxir を PVN に投与することにより嗜好性が逆転した。反対に、PVN の AMPK 活性を抑制するメラノコルチン受容体アゴニスト (MT-II) を投与すると絶食後の再摂食にも関わらず、高脂肪食を多く摂食した。

以上のことから、PVN の AMPK は、脂肪酸酸化を介して炭水化物食、脂肪食の嗜好性を制御することが明らかとなった。またその調節にはメラノコルチン受容体が関与すると考えられる。

S 18-4

ネスファチン-1 による中枢性摂食調節機構

群馬大学大学院病態制御内科学 (内分泌・糖尿病内科)

清水 弘行, 森 昌朋

PPAR γ agonist により誘導される新たな食欲抑制蛋白、ネスファチン-1 を私達は見出した。ネスファチン-1 は視床下部室傍核において摂食調節を行っていることや、そのネスファチン-1 の作用発現機構がレプチン系とは独立した経路をとる可能性を明らかとしてきた。ネスファチン-1 は末梢の脂肪細胞などにも発現しているので、その末梢投与後の摂食抑制作用の可能性について検証するとともに、その作用発現機構を解明し、将来の創薬に向けたアナログ作成の可能性について検討したので報告する。ネスファチン-1 の腹腔内投与 (10-1, 250 pmol/g body weight) は、用量反応性にマウスの暗期における摂食行動を抑制し、皮下投与では腹腔内投与に比較してより長時間継続する摂食抑制が認められた。ネスファチン-1 を α -helix 構造を中心に 3 分割し、N-端側、C-端側ペプチドとその中間の 30 個のアミノ酸 (M 30) ペプチドの 3 種類を合成し、それらの腹腔内投与効果について検討を行ってみると M 30 ペプチドのみが明らかな摂食抑制作用を示した。これらの結果より、M 30 部分にネスファチン-1 の活性発現部分が存在することが明らかとなった。また M 30 ペプチドの投与は *ob/ob*, *db/db* や *agouti* マウスのような遺伝的肥満動物における摂食行動を抑制し、レプチン抵抗性状態にある高脂肪食誘発性肥満マウスにおける摂食行動も抑制した。M 30 ペプチドの腹腔内投与により、マウス脳幹部孤束核における *c-fos* の発現は増加し、CART mRNA や POMC mRNA の発現も増強した。一方、視床下部弓状核においては M 30 ペプチドの腹腔内投与により何れの変化も観察されなかった。以上の成績より、ネスファチン-1 の活性部位が明らかになり、腹腔内投与されたネスファチン-1 の摂食抑制シグナルが末梢から中枢への伝達される際における脳幹部孤束核の重要性が明らかとなった (一部は自治医大矢田俊彦先生との共同研究による)。

S 18-5

アディポネクチンの摂食・エネルギー調節における役割

東京大学大学院医学系研究科糖尿病・代謝内科¹，生理学研究所発達生理学研究系生殖・内分泌系発達機構²

窪田 直人¹，窪田 哲也¹，山内 敏正¹，
植木浩二郎¹，箕越 靖彦²，門脇 孝¹

AMP キナーゼ (AMP-activated protein kinase) は 5'AMP によって活性化されるセリン/スレオニン キナーゼである。以前より，AMP キナーゼは細胞内のエネルギーセンサーとして作用していることが知られていたが，最近，視床下部を介して個体のエネルギー状態や摂食についてもコントロールしていることが報告され注目を集めている。我々はこれまでアディポネクチンが骨格筋や肝臓の AMP キナーゼ活性化を介して，脂肪酸燃焼や糖新生抑制によってインスリン抵抗性を改善することを明らかにしてきたが，本シンポジウムではアディポネクチンの摂食・エネルギー調節における役割について発表をしたい。

アディポネクチン受容体 (AdipoR 1/AdipoR 2) はいずれも視床下部弓状核にその発現が認められ，免疫組織学的検討により AdipoR 1 とレプチン受容体は視床下部弓状核において colocalize していることが明らかとなった。また野生型マウスの髄液 (CSF) 中にはアディポネクチンが存在し，アディポネクチン欠損マウスに対し外来性にアディポネクチンを静注するとアディポネクチンが末梢循環から CSF 中に移行することが確認された。興味深いことに，CSF 中のアディポネクチンは，血清中とは異なり 12 量体以上の多量体はほとんど存在せず，6 量体と 3 量体のみであった。また血中や CSF 中のアディポネクチン濃度や視床下部 AdipoR 1 の発現はいずれも絶食時に高く，摂食後に有意に低下していた。

次にアディポネクチンの摂食やエネルギー調節における役割について検討したところ，アディポネクチンは主に AdipoR 1 を介して視床下部弓状核の AMP キナーゼを活性化し，摂食量を増加させ，個体のエネルギー消費量を抑制することが明らかとなった。またアディポネクチン欠損マウスでは，絶食時の視床下部弓状核の AMP キナーゼ活性が野生型マウスに比較して低く，高脂肪食下において摂食量の低下と酸素消費量の増加が認められた。

以上の結果から，アディポネクチンは主に絶食時すなわち脂肪量が低下した状態において作用し，摂食促進とエネルギー代謝抑制を介して脂肪蓄積を増加するような生理的作用を持っており，そのため脂肪量が過剰となった肥満の状態ではアディポネクチンレベルが減少する。ところがこれが骨格筋や肝臓においてはインスリン抵抗性を引き起こす原因の 1 つになっていると思われる。