

2021 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

研究成果報告書

(1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。)

共同研究員

(2) 研究代表者

氏名：花田 礼子

所属機関名・部局名・職名：大分大学・医学部・神経生理学講座

(3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同一課題名を記入して下さい。)

摂食関連神経ペプチドの脳内高次機能における役割の解明

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：疋田 貴俊

(研究室名：高次脳機能学研究室)

(5) 研究成果の概要 (公開)

【背景および目的】

中枢性摂食調節機構は視床下部や後脳における「エネルギー恒常性調節機構」のみならず、「脳内報酬系」や「不安・ストレス反応」などを含む脳内高次機能と密接に関連していることが報告されている(Nat. Rev. Neurosci., 2011)。このような背景のもと、本研究ではエネルギー代謝調節機構に関与する神経ペプチドに着目し、その脳内高次機能における生理作用の解析をおこなっている。具体的には Neuromedin U (NMU) ならびに Neuromedin S (NMS)、新規分泌因子 Neurosecretory peptide GL(NPGL)や Neurosecretory peptide GM (NPGM)に焦点を当て、それぞれの遺伝子欠損マウス(KO マウス)を作製し、その生理機能の解析を進めている。

NMU は 1985 年に同定された生理活性ペプチドであり、2000 年に 2 種類の NMU 受容体(NMUR1、NMUR2)が同定されたのを機に生理機能の解析が進み、現在までに NMU が恒常性調節機構としても摂食・エネルギー代謝調節のみならず、自律神経系の調節、中枢性骨量調節、睡眠・覚醒等サーカディアンリズムの調節ならびに末梢組織における炎症反応の制御に関与することを見出してきた ([Peptides 2018,99:134](#), [Nat.Med 2007,13:1234](#), [J Exp Med 2005](#), [Nat.Med 2004,10:1067](#), [BBRC 2004,323:615](#), [BBRC 2004,318:156](#), [BBRC 2001,289:225](#), [BBRC 2000,277:191](#))。さらに 2005 年、NMU 受容体の新たな内因性リガンドであるニューロメジン S (NMS)が同定され、NMS が概日リズムや摂食調節機構に関与している事が報告された(EMBO

J. 2005)。また、最近では NMU システムが自然免疫 Th2 経路の主要なメディエーターであることが明らかとなり、免疫分野における最新のトピックとなっている(Nature 2017)。近年、脳内 NMU システムが脳内高次機能に関与していることが報告されているが、その詳細はまだ不明であり、本研究では NMU システムの脳内高次機能における役割について、行動生理学実験を中心に解析を進めている。

さらに本研究では、摂食・エネルギー代謝調節機構に関与する新たに同定された神経ペプチド、NPGL、NPGM の生理機能の解析を行っている。CRISPR/Cas9 システムを用いて、これらの遺伝子改変マウス (NPGL/NPGM KO) を作製し、NPGL/NPGM システムのエネルギー恒常性調節機構に関する詳細な生理機能や分子メカニズムの解析を進めている。また、NPGL/NPGM は脳内高次機能に関与する脳部位に発現や神経線維の投射を認めるものの、脳内高次機能に関する生理機能解析はほとんどおこなわれていないため、NPGL/NPGM の脳内高次機能に関する新たな生理機能も追究する予定である。

以上のように、本研究では、高次脳機能、行動生理学、神経回路機構研究を専門とし、これらの解析を行うための測定

装置を有する蛋白質研究所・疋田貴俊教授との共同研究にて、NMU/NMS KO、NPGL/NPGM KO マウスを用いた生理機能解析をおこない、それぞれの神経ペプチドのエネルギー恒常性調節機構や脳内高次機能に関わる新たな生理機能や分子メカニズムを明らかにする計画である。

【方法と結果】

独自に樹立した NMU/NMS 両遺伝子欠損マウス (NMU/NMS dKO マウス) を用いて、脳内高次機能が関与する一連の行動実験を行ったところ、NMU/NMS dKO マウスでは野生型マウスに比べて、受動回避試験でのストレスに対する脆弱性が認められた。また、ストレス負荷7日後、28日後におけるコルチコステロン動態を解析したところ、野生型マウスに比べ NMU/NMS dKO マウスでは有意に血中コルチコステロンレベルが上昇していることが判明した。さらに、ストレス負荷28日後に NMU/NMS dKO マウスならびに野生型マウスを断頭し、c-Fos 抗体を用いた免疫染色にて活性化する脳内の神経細胞を同定したところ、NMU/NMS dKO マウスでは海馬 CA1 領域、扁桃体外側核 LA おいて著名に c-Fos 陽性細胞の増加が認められた。その他の脳内部位である側坐核 (NAc)、前頭前野 (PFC)、線条体 (CPu)、水道周囲灰白質 (PAG) に関しても NMU/NMS dKO マウスにおける c-Fos 陽性細胞が有意に増加していることが判明した。現在、さらなる分子メカニズムの解析を進めている。

作製した NPGL/NPGM 両遺伝子欠損マウス (NPGL/NPGM dKO マウス) ならびに野生型マウスに高脂肪食負荷をおこなったところ、NPGL/NPGM dKO マウスでは抗肥満作用を有することが判明した。そのメカニズムとしては、脳内摂食抑制ペプチドの遺伝子発現量の増加に伴う摂食量の低下ならびに交感神経賦活化によるエネルギー消費量の増加に起因することが明らかとなった。現在、より詳細な神経回路の解析を施行中である。