

博士論文 (要約)

摂食制御における自由走行運動の役割に関する研究

東京大学大学院農学生命科学研究科
獣医学専攻
獣医生理学研究室
平成 25 年度進学

小松田 麦子

目次

序論	1
第1章 自由走行運動がヒト成長ホルモン遺伝子導入ラットの過食に与える影響	
緒言	8
材料と方法	9
結果	14
考察	18
図表	21
第2章 グルココルチコイドがヒト成長ホルモン遺伝子導入ラットの過食に与える影響	
緒言	35
材料と方法	37
結果	41
考察	45
図表	49
第3章 自由走行運動による摂食制御機構	
緒言	61
材料と方法	63
結果	68
考察	73
図表	77
総合考察	91
図表	95
引用文献	96
謝辞	114
要旨	115

序論

摂食行動の制御機構

すべての動物は、食べることによって外界から必要な栄養素を取り込み、それを利用して生きている。エネルギーが不足すれば体温の維持や組織の機能維持が困難になり、最悪の場合には死に至る。しかしながら過剰にエネルギーを摂取すれば脂肪の過剰蓄積から肥満を招き、種々の代謝性疾患の原因となるほか、運動機能が低下することで捕食される危険性が高まることにもなる。また単純なエネルギー収支だけでなく、アミノ酸や無機塩類などのバランスも健康状態に大きく影響を与える。ゆえに、動物には自らの体内の状態を常にモニターして必要な量の栄養素を摂取する機構が備わっており、それによって体内環境の恒常性を維持している。そのため、例えば常に必要量以上の餌を給与されている実験動物であっても、目の前にある餌を食べ尽くすことはなく、毎日一定量の餌を自発的に調整して摂取する様子が観察される。

脳の視床下部は、古くより摂食制御の中心的役割を果たすと考えられてきた部位である。ネコやラットを用いた局所破壊実験から、脳の視床下部が摂食行動の調節に関与する重要な部位であることが20世紀半ばより知られていた (Hetherington *et al.*, 1942; Anand *et al.*, 1951)。そしてそれを支持するように、視床下部では摂食量の調節に関与するニューロペプチドとそれを産生するニューロンが多数発見されてきている。例えば、弓状核の neuropeptide Y (NPY) (Tatemoto *et al.*, 1982; Marks *et al.*, 1996) /Agouti related peptide (AgRP) (Ollmann *et al.*, 1997) ニューロンと proopiomelanocortin (POMC) (Fan *et al.*, 1997) /cocaine-and amphetamine-regulated transcript (CART) (Elias *et al.*, 1998; Kristensen *et al.*, 1998) ニューロンはそれぞれ前者が摂食を促進、後者が摂食を抑制することで知られる。外側野に存在するオレキシン (Sakurai *et al.*, 1998) ニューロンと melanine-concentrating hormone (MCH) (Bittencourt *et al.*, 1992; Shimada *et al.*, 1998) ニューロンはともに摂食量を増加させる。逆に室傍核の corticotropin-releasing hormone (CRH) (Levine *et al.*, 1983; Krahn *et al.*, 1989) ニューロンは摂食量を減少させる。ここにあげたのはごく一部であり、現在でも摂食制御に関わる新たなニューロペプチドやホルモンの存在が次々と明らかになっている。

また、脳の視床下部以外の部位としては、扁桃体が食料や食料に関連した刺激の認知およびストレス負荷時の高カロリー食餌の嗜好性 (Coppin, 2016) に、海馬が空腹と

満腹の内受容シグナルの認知や食餌に関する記憶 (Coppin, 2016) に関与するほか、報酬系の腹側被蓋野と投射先である前頭前野、側坐核なども嗜好性の高い食餌の選択や過食症の発症に関わっていることが知られている (Palmiter, 2007; Bello and Hajnal, 2010)。

さらに、脳には血中のグルコース濃度や脂肪酸の濃度を感知して興奮性が変化するニューロンが存在し、体内の栄養状態をモニターしている (Oomura *et al.*, 1969; Oomura *et al.*, 1975; Maekawa *et al.*, 2000)。他にも、副腎より分泌され代謝を亢進するグルココルチコイド (Tataranni *et al.*, 1996)、脂肪組織より産生され肥満度に応じて摂食量を減少させるレプチン (Campfield *et al.*, 1995; Montague *et al.*, 1997)、消化管より産生され摂食量を増加させるグレリン (Nakazato *et al.*, 2001)、満腹感を感知し摂食行動を停止させるコレシストキニン (Berthoud *et al.*, 1996) などの末梢組織から分泌されるホルモンも、空腹度や栄養状態を反映して中枢神経に作用し、摂食量を制御することがわかってきた。

このように、摂食行動が動物の生命維持に不可欠であるがゆえに、その制御機構には非常に多くの要因が関与し、多元的にコントロールされている。

動物の長い進化の歴史は「飢えとの戦い」の歴史でもあり、現存する動物はみな飢えにうまく適応できる生き残りである。前出の摂食量を減少させる作用のあるレプチンを欠損したマウス (*ob/ob* mice, Pelleymounter *et al.*, 1995) やその受容体の欠損マウス (*db/db* mice, Chen *et al.*, 1996)、ヒト 4 型メラノコルチン受容体 (MC4R) の遺伝子ノックアウトマウス (Chen *et al.*, 2000) が過食と肥満を示すのに対し、摂食量を増加させる NPY や AgRP、グレリンは単独の遺伝子欠損では摂食量に影響しない (Qian *et al.*, 2002; De Smet *et al.*, 2006) ことから、摂食量を増加させる機構が冗長性を持つことがうかがえる。

しかしながら、現代の人類にとっては、特に先進国において、動物がかつて経験したことのない「飽食」の時代を迎え、高カロリーの食料がいつでも手に入る環境によって起こる食べ過ぎとそれに伴う肥満が大きな社会問題になっている。また、神経性の過食や拒食などの摂食障害、投薬の副作用による食欲低下など、食べる量をうまく調節できない病気も存在する。現在、摂食量を抑制させるために用いられている治療薬はセロトニン選択的取り込み阻害剤 (SSRI) のみであり、胃バイパス手術や胃切除手術は効果が高いものの身体的負担が大きいことが問題になっている。よって、摂食行動の制御機構を解明し、正常な摂食量を維持するための新たな方法を確立することが求められている。

グルココルチコイドによる摂食制御

ストレス環境下では、摂食量の増減がしばしば認められる。ヒトではその 35-60%がストレス環境下で摂食量が増加し、25-40%は逆に摂食量が減少する (Epel *et al.*, 2004; Oliver and Wardle, 1999; Weinstein *et al.*, 1997)。また、嗜好性も変化し、より「美味しい」脂肪や糖分、炭水化物を多く含む食事を多く食べるようになり (McCann *et al.*, 1990; Oliver and Wardle, 1999; Laugero *et al.*, 2011; Groesz *et al.*, 2012; Kim *et al.*, 2013; Tryon *et al.*, 2013)、この傾向は摂食量が減少した人でも見られる (Oliver and Wardle, 1999) 他、実験動物のげっ歯類においても同様の嗜好性の変化が見られる (la Fleur *et al.*, 2014; Packard *et al.*, 2014; Pecoraro *et al.*, 2004; Zeeni *et al.*, 2013)。ストレスに反応して動物の体内では血中のグルココルチコイド濃度が上昇し、この高嗜好性の餌の摂取量は血中グルココルチコイド濃度依存的に上昇することから、グルココルチコイドが食事や餌の選択に関与していると考えられている (Dallman *et al.*, 2005)。

ヒトや、イヌなどの愛玩動物において、ストレスと無関係な血中グルココルチコイド濃度の上昇によって摂食量が増加する例もある。例えばクッシング症候群や疾病の治療目的のグルココルチコイドの投与によって血中グルココルチコイド濃度が上昇すると、摂食量が増大し (Tataranni *et al.*, 1996)、逆にアジソン病などの副腎機能不全では食欲不振が症状として起きることが知られている。副腎摘出 (ADX) 処置によって摂食量が減少するという報告が、複数の過食モデルによって示されている (Shimomura *et al.*, 1987; Sainsbury *et al.*, 1997; Yi *et al.*, 2010; Sharma and Fulton, 2013) ことから、グルココルチコイドが過食の発症に関与していることが示唆されている。このように、グルココルチコイドには摂食量や嗜好性を制御する働きがあると考えられる。

過食モデル動物とヒト成長ホルモン遺伝子導入ラット (TG)

摂食量の調節機構を研究する上では、各種のモデル動物が用いられてきた。マウスやラットに短時間の絶食を課した後に再給餌したり、嗜好性の高い高脂肪食や高炭水化物食を与えることで過食を発症させるほか、摂食制御に関わるホルモンを投与したり、先に述べた *ob/ob*、*db/db* のような遺伝子欠損動物や、各種の遺伝子をノックアウトや過剰発現させた動物が用いられている。

当研究室で作出されたヒト成長ホルモン (hGH) 遺伝子導入ラット (以下 TG) (Ikeda *et al.*, 1994) は、マウス乳清酸性タンパク質 (mouse whey acidic protein, WAP) プロモーターに hGH を繋げたコンストラクトが導入されている。本 TG では導入遺伝子に由来する hGH が乳腺以外の組織でも発現し、雌雄ともに血中にも少量の hGH 分泌

がみられる。一方で TG の脳内では下垂体、視床下部、小脳などで hGH の発現がみられ (関、平成 11 年、卒業論文)、脳脊髄液中の hGH 濃度は血中の 100 倍以上の高値を示す (Komatsuda *et al.*, 2014)。また、内因性のラット成長ホルモン (rGH) については成長ホルモンの特徴的なパルス状分泌が消失しており、低濃度に維持されている (Ikeda *et al.*, 1994)。

この TG は離乳直後からの過食と全身性の脂肪蓄積を示す (Furuhata *et al.*, 2000; Hozumi *et al.*, 2006) ことから、過食と肥満のモデル動物として研究が進められてきた。TG が過食を発症する機構としては、TG へのレプチンの脳室内投与で摂食量の減少がみられたが腹腔内投与では効果がみられなかったことから、レプチンの中枢への輸送障害に起因するレプチン抵抗性があることが示唆されている (Furuhata *et al.*, 2000)。また、hGH の 4 時間ごとの連続的な腹腔内投与を継続することで TG の過食が部分的に抑制されること、さらにラットの摂食量が増加する暗期において TG ではグレリンの血中濃度の増加が見られることから、末梢の GH 濃度の低下とグレリンの血中濃度上昇が TG の過食の一因であると考えられている (Hozumi *et al.*, 2006)。なお、ウシ GH の過剰発現マウスは過食を示し、マウス脳室内にウシ GH を投与すると摂食量が増加する (Bohlooly *et al.*, 2005) ことから、中枢に高濃度に発現している成長ホルモンが TG の過食の一因となっている可能性も考えられる。

さらに、TG は全身性の脱毛、骨格筋の発育不全 (Shibata *et al.*, 2010)、骨密度の低下 (Yamanouchi *et al.*, 2004)、脂肪の蓄積 (Yamanouchi *et al.*, 2004) など、グルココルチコイドの過剰分泌が疑われる表現型を多く示す。また、別の成長ホルモン遺伝子組み換え動物でも血中のグルココルチコイド濃度が上昇しているものが複数報告されている (Cecim *et al.*, 1991; Bohlooly-Y *et al.*, 2005) ことから、成長ホルモンの分泌異常がグルココルチコイドの過剰分泌を招くことが考えられ、TG の体内でもグルココルチコイド濃度が高くなっている可能性がある。

走行運動がもたらす全身性の影響

摂食行動と同様に見られる動物の本能的な行動に、走行運動がある。ラットなどのげっ歯類をランニングホイール (Running Wheel、以下 RW) 付きのケージでいつでも自由に走行できる環境下で飼育すると、活発な走行運動がみられ、その走行距離は系統や個体にもよるが、一晩で数千メートルに及ぶものもある。よって、RW ケージで飼育するだけで、何ら強制しなくてもラットやマウスを運動させることができる。

走行運動はエネルギー消費量を増大させるだけでなく、循環器系機能の向上 (Park *et al.*, 2012)、インスリン感受性と糖代謝の亢進 (Boersma *et al.*, 2012) など全身性に

様々な有益な作用を持つことが知られている。中枢神経においても、海馬における神経新生の増加 (van Praag *et al.*, 1999, Stranahan *et al.*, 2009, Kobilko *et al.*, 2011)、認知機能の向上 (Gomez-Pinilla *et al.*, 1998; Kelly *et al.*, 2014)、気分障害の改善 (Cunha *et al.*, 2013; Wegner *et al.*, 2014) などの有用な効果があることが知られている。また、RW での自由走行運動はそれ自体が餌や中毒性のある薬物のように報酬として働くことが示されており (Iversen *et al.*, 1993; Belke *et al.*, 1997; Lett *et al.*, 2000; Belke *et al.*, 2005; Brene *et al.*, 2007)、RW へのアクセスを報酬にしてレバー押しを学習させることが可能であるほどである (Iversen *et al.*, 1993; Belke *et al.*, 1997)。このように、走行運動は動物に多方面からの影響を与えることがわかっている。

走行運動と摂食行動の関連

さらに走行運動が摂食量や餌の選択にも影響することが分かってきた。マウスでは走行運動によって摂食量が増加する (Swallow *et al.*, 2001) が、人やラットを用いた実験では走行運動が食欲や摂食量を減少させることが示されている (Ahrens *et al.*, 1972; King *et al.*, 1994; Eckel *et al.*, 2004; Bi *et al.*, 2005)。また、野生型のラットに通常餌と同時に脂肪やショ糖の割合が多い餌を与えると後者を選択的に多く摂取する嗜好性が見られるが、RW を用いて自由走行運動ができる環境で飼育するとこの高脂肪餌や高ショ糖餌への嗜好性が消失する (Moody *et al.*, 2015; Liang *et al.*, 2015) ことが分かっている。このように、走行運動には何らかの機構により摂食行動を調節する作用があると考えられる。

本研究の目的

走行運動により摂食量が減少したり、高カロリーな食事への嗜好性が減弱するのであれば、走行運動を用いた行動療法的なアプローチによって、摂食行動を制御できる可能性がある。これは現存する投薬や外科手術による治療よりも、はるかに身体的負担の少ない治療法となることが期待できる。さらに、走行運動による摂食制御の生理的機構を明らかにすることで、身体障害などの理由で運動ができない患者にも適用できる治療方法の確立につながると考えられる。

そこで本研究では、過食モデルとして TG を用いて、自由走行運動による摂食制御機構を解明することを目的に、実験を行った。

第1章では、RW における自由走行運動が TG の摂食量に与える影響について検討した。第2章では、TG の示す過食や脱毛、中心性肥満といった表現型からグルココルチコイドに着目し、TG の過食の原因を探るため、グルココルチコイドが TG の摂食量に

与える影響について検討した。第3章では、自由走行運動によって活性化する脳部位を探索し、摂食量の制御に関与する因子の同定を試みた。

第 1 章

自由走行運動がヒト成長ホルモン遺伝子導入ラットの
過食に与える影響

第1章の内容は学術論文として投稿予定のため、公表できない。3年以内に出版予定。

第2章

グルココルチコイドがヒト成長ホルモン遺伝子導入ラットの
過食に与える影響

第2章の内容は学術論文として投稿予定のため、公表できない。3年以内に出版予定。

第3章

自由走行運動による摂食制御機構

第3章の内容は学術論文として投稿予定のため、公表できない。3年以内に出版予定。

総合考察

過食による肥満や摂食障害は特に先進国において大きな社会問題になっているが、摂食行動には中枢から末梢まで様々な制御機構が複雑に関与しているため、有効な治療法はいまだ確立されていない。身体運動は消費エネルギーを増加させることで肥満の解消に役立つが、特に走行運動には食欲や摂食量を抑制する効果もあることが、人や実験動物を用いた実験によって明らかになってきた。よって本研究は、自由走行運動による摂食制御機構を明らかにすることを目的にして行われた。ここで、各章で得られた結果をまとめ、その内容を複合的に考察したい。

第1章では、ランニングホイール (Running Wheel、以下 RW) を用いた自由走行運動によって、成長ホルモン遺伝子導入ラット (TG) が先天的に示す過食が抑制され、WT と同程度の正常な摂食量を、自由走行運動が可能な限り長期間にわたって維持できることを示した。この効果をもたらすには TG が自発的に示す極めて少ない走行量でも十分であった。また、自由走行運動による TG の摂食量を正常にする効果は即時的かつ可逆的であり、走行運動を開始する週齢とは無関係であった。このとき視床下部の各種ニューロペプチドとその受容体の遺伝子発現量を解析したが、自由走行運動による TG の摂食量の正常化に関連付けられるような発現量の変化は認められなかった。

第2章では、TG の体内でコルチコステロンが過剰分泌されていることを示した。また TG に副腎摘出 (ADX) 処置をすると摂食量が減少し、WT と同程度の摂食量が実験終了まで2週間以上維持された。さらにこの ADX 処置をした TG にコルチコステロンを連続的に皮下投与したところ、過食が再発した。一方で、WT においては、ADX 処置も TG の血中濃度を再現する高濃度のコルチコステロンの投与も摂食量には全く影響しなかった。

第3章では、自由走行運動により活性化する脳部位を探索し、摂食量の制御に関与する因子の同定を試みた。走行運動と摂食行動が活性化する暗期の初期において、RW ケージで飼育していたラットでは通常ケージでの飼育に比べて、神経興奮のマーカーである c-fos の陽性細胞数が扁桃体内側核と背側縫線核で10倍以上に増加していることがわかった。さらに、サンプリングの3.5時間前に RW を固定した場合には、この神経興奮は消失していた。DNA チップを用いた解析によって、自由走行運動をしたラットでは扁桃体におけるプロスタグランジン合成酵素 COX-2 の遺伝子発現量が増加することが明らかになり、さらに COX-2 の選択的阻害剤の脳室内投与によって自由走行運動による TG の摂食量減少作用が阻害されることがわかった。背側縫線核で c-fos 陽性であったニューロンの約40%はドーパミンニューロンであり、その投射先である側坐核では、TG でのみ自由走行運動によってドーパミン受容体の遺伝子発現量が増加していることが明らかになった。

以下に、各章で得られた結果を複合的に考察した。なお、これらをまとめた概念図を Fig. 4 に示した。

第1章の考察では、自由走行運動によるTGの摂食量を正常にする効果について、TGの自発的走行量の少なさ、この効果が発現する即時性と可逆性、および走行運動を開始する週齢と無関係であることなどから、実際の走行運動ではなく環境エンリッチメントとしての側面、つまり「いつでも自由に走行できる飼育環境」が摂食量の正常化において重要な役割を果たしているのではないかと述べた。なお本文中には示していないが、数日間の周期でRWの固定と解除を繰り返すと、TGの摂食量はその日に自由走行運動が可能か否かに反応して正常量と過食を速やかに行き来する(小松田、2013、卒業論文)。また、正常な自発走行運動の発現を妨げる24時間連続明期の飼育条件下ではTGの摂食量は増加し、通常ケージ飼育のTGと同程度の量を摂食する(データ非掲載)。これらの観察結果も、「実際の運動ではなく自由走行が出来る飼育環境」という仮説に合致するものである。

第3章で示した、RWケージ内での4週間の飼育で見られた背側縫線核と扁桃体内側核のc-fos陽性の細胞数の増加が、サンプリングの直前3.5時間にRWが不動化されることで消失した結果も走行運動ができる飼育環境が重要であるというこの考察を支持している。RWが不動化されない場合にはこの3.5時間の走行量は、WTで約100-600m、TGでは約60-100m程度であり、それ以前の4週間の総走行量と比べればごくわずかである。ゆえに、これらのニューロンは走行運動の身体的効果や過去の走行運動量ではなく、「現在自由走行運動ができるか否か」に反応して興奮しているものと考えられる。今後、トレッドミルなどを用いた強制運動、RWでの走行できる時間帯を1日のうち数時間に制限する飼育条件、RW以外の環境エンリッチメント(巣箱やトンネル、齧ることのできる玩具など)の供与などを実験条件として加え、その時の摂食量を今回のデータと比較することで、摂食量を正常に保つ効果には自由走行運動の中のどの要因が関与しているのかを明らかにできることが期待できる。

第2章では、コルチコステロンの過剰分泌および、グルココルチコイドが摂食量を増加させる効果への感受性の変化が、TGの過食の原因であることを示した。レプチンやその受容体欠損マウスが同様の高コルチコステロン血症を示し、ADX処置によって摂食量が正常化する(Shimomura *et al.*, 1987; Yi *et al.*, 2010) 他、NPYの摂食量増加作用発現にグルココルチコイドが必要であり(Sainsbury *et al.*, 1997)、高脂肪食の給餌による過食肥満モデルでも、血中のコルチコステロン濃度が上昇することが報告されている(Sharma and Fulton, 2013)。このように、過食という病態の発現には、元になる遺伝的・環境的要因が異なっても、グルココルチコイドの関与が示唆されるものが多い。グルココルチコイドにはそれ自体は作用を示さない微量でも、グルカゴンやカテコラミン、成長ホルモン(GH)など他のホルモンの効果を増強する「許容効果(permissive effect)」が知られている(Ingle, 1954; Becker *et al.*, 2001) ため、要因の異なる様々な過食の発現機構において、グルココルチコイドが自身の分泌量とは無関係に、そのトリガーになっている可能性も考えられる。GHの中枢内過剰発現や脳室内投与は摂食量を増加させることが知られている

(Bohlooly *et al.*, 2005) ことから、仮にGHの摂食量増加作用についてもグルココルチコイドの許容効果が働くのであれば、TGの過食の主要因は中枢内のGH過剰発現であり、グルココルチコ

イドの存在はそのトリガーである可能性もある。その一方で、グルココルチコイドが過食の主要因であるとすれば、GHは 11β -HSDに作用してグルココルチコイドの代謝を抑制する(Weaver *et al.*, 1994)ことから、TGにおける中枢の高濃度のGH分泌が、二次的にグルココルチコイドの脳内濃度を上昇させることが、過食につながっているのかもしれない。

自由走行運動はTGの副腎肥大を抑制していたが、血中コルチコステロン濃度の低下は部分的なものであった。したがって、この変化がTGの摂食量を正常化する機構の一要因であることが考えられるものの、その効果は副因的であると考えられる。

青斑核のドーパミンニューロンや背側縫線核のセロトニンニューロンはグルココルチコイド受容体を発現しており(Czyrak and Chocyk, 2001; Lechner and Valentino, 1999)、グルココルチコイドがtyrosine hydroxylaseやtryptophan hydroxylaseの発現を抑制することでこれらのモノアミンの合成を阻害する作用があることが知られている(Clark *et al.*, 2008; Walther and Bader, 2003)。よって、第3章で述べた、自由走行運動によって興奮性が増加する背側縫線核のドーパミンニューロンも、TGの慢性的なコルチコステロン過剰分泌によって抑制を受けている可能性がある。またグルココルチコイドは強力な抗炎症作用を持ちCOX-2の発現量を抑制する働きがあるため、高コルチコステロン血症を示すTGの中枢はCOX-2の発現が上昇しづらい環境であると考えられる。しかしRWによるドーパミンニューロンの興奮状態の変化やCOX-2の発現量上昇はWTとTGで同じように見られたことから、走行運動はグルココルチコイドの抑制作用とは独立に作用できると考えられる。

また、背側縫線核のドーパミンニューロンは、側坐核や前頭皮質など、報酬系の主要な神経回路であるA10神経系と呼ばれるドーパミンニューロンと類似の部位に投射している。したがって、自由走行運動は背側縫線核のドーパミンニューロン群を興奮させることで、餌の代替となる報酬として作用し、薬物と同じようなメカニズムで摂食量を抑制しているのかもしれない。これについては、レバー押しやConditioned Place Preference Testなど報酬強度を測定する手法を用いてRWの有無により餌の報酬強度が変化するかを調べることで検証することができる。また、コカインやアンフェタミンなど依存性のある薬物およびエタノールなど、ドーパミンニューロンを興奮させ報酬として機能する物質も自由走行運動によってその摂取量が減少することが知られている

(Zlebnik *et al.*, 2010; Smith and Lynch 2011; Engelmann *et al.*, 2014; Darlington *et al.*, 2014; Sobieraj *et al.*, 2016; Darlington *et al.*, 2016)ことから、ドーパミン神経を介した報酬系においては、異なる報酬どうしが拮抗作用を持つことが考えられる。

走行運動は代謝の大きな変化を伴う行動であるが、自発走行運動による摂食の制御機構においては、古典的に代謝・摂食の制御中枢であると考えられてきた視床下部よりもむしろ、情動や報酬を司る神経系である縫線核や扁桃体を介していることが、本研究により新たに見出された。

体重の維持には“セットポイント”という概念がある。動物は身体の恒常性を維持するために、個別に一定値の体重が決まっていて、そこからの「ずれ」が生じるとそれを感知して元に戻そうとす

る長期的な調節機能が備わっているという仮説であり、急激なダイエットの後にはリバウンドが起きやすいことなどの説明にも使われている (Harris, 1990; Farias *et al.*, 2011)。同様の概念は血圧の調節 (Nishida *et al.*, 2012) および体温維持 (Kuznetsov and Kazakov, 2000) でも提唱されている。このセットポイント理論を摂食制御にも適用することはできないだろうか。温度や照明条件が一定で外的刺激の少ない飼育環境にいる実験動物は、自由給餌であっても毎日ほぼ同量の摂食量を示す。また、TG を含め遺伝的な過食モデル動物は過食を示すものの、日々の摂食量は一定である (Schellekens *et al.*, 2012; Bae *et al.*, 2015)。さらに、ラットに高脂肪食を与えると初期の数日は摂食量が増加するが、以降は減少し、通常食群と同じ摂取カロリーに相当する摂食量を半年以上にわたって維持する (Higuchi *et al.*, 2012) ことから、体内には長期的な摂取カロリーを一定に保つ仕組みがあり、その効力は高脂肪食への嗜好性を上回るものであることがわかる。今回の研究で新たに見出された自由走行運動による摂食量の減少は TG でのみ見られた。これを、自由走行運動には単なる「摂食量の減少作用」ではなく「摂食量をラットの正常なセットポイントに戻す作用」であると捉えると、自由走行運動による TG の摂食量が正常値に長期間維持されたこと、および、もともと正常な摂食量を示す WT では摂食量が影響されなかったことの説明ができる。

過食とそれによって起きる肥満は様々な疾患の原因となり深刻な社会問題として認識されているが、治療方法は確立されておらず、治療薬もセロトニン選択的取り込み阻害剤 (SSRI) などごく限られている。過去に報告されている、他の過食モデル動物を用いて走行運動が摂食行動に与える影響を調べた実験では、走行運動がトレッドミルなどを用いた強制運動を用いているか、自由走行運動であっても自発的な走行量が野生型と同じあるいはより多い。そして摂食量に与える影響は微弱あるいは一過性のものであった。一方で、今回の実験に用いた TG では、ごくわずかな運動量であっても、自由走行運動ができる飼育環境にいただけで摂食量を正常に保つことができるという現象が確認された。

軽度の運動で摂食量を正常なまま長期間に維持出来るという効果は、過食の治療に応用するという面で考えると、過去の報告よりも望ましいものであると言える。さらに、グルココルチコイドの過剰分泌を原因とする過食を示す TG に自由走行運動が効果を示したことから、ストレス環境下での過食や高カロリー食の嗜好性にも自由走行運動が抑制的に作用することが考えられる。運動は体重の抑制のみならず、摂食量の減少にもつながるといふ本研究結果は、過食性肥満の治療において、軽度の運動を用いた行動治療的なアプローチを用いることができる展望を示す。さらに本研究で新たに見出された、走行運動が縫線核や扁桃体を介して摂食量を制御する機構を標的にすることで、より汎用性の高い過食性肥満や摂食障害の治療法の確立につながることを期待できる。

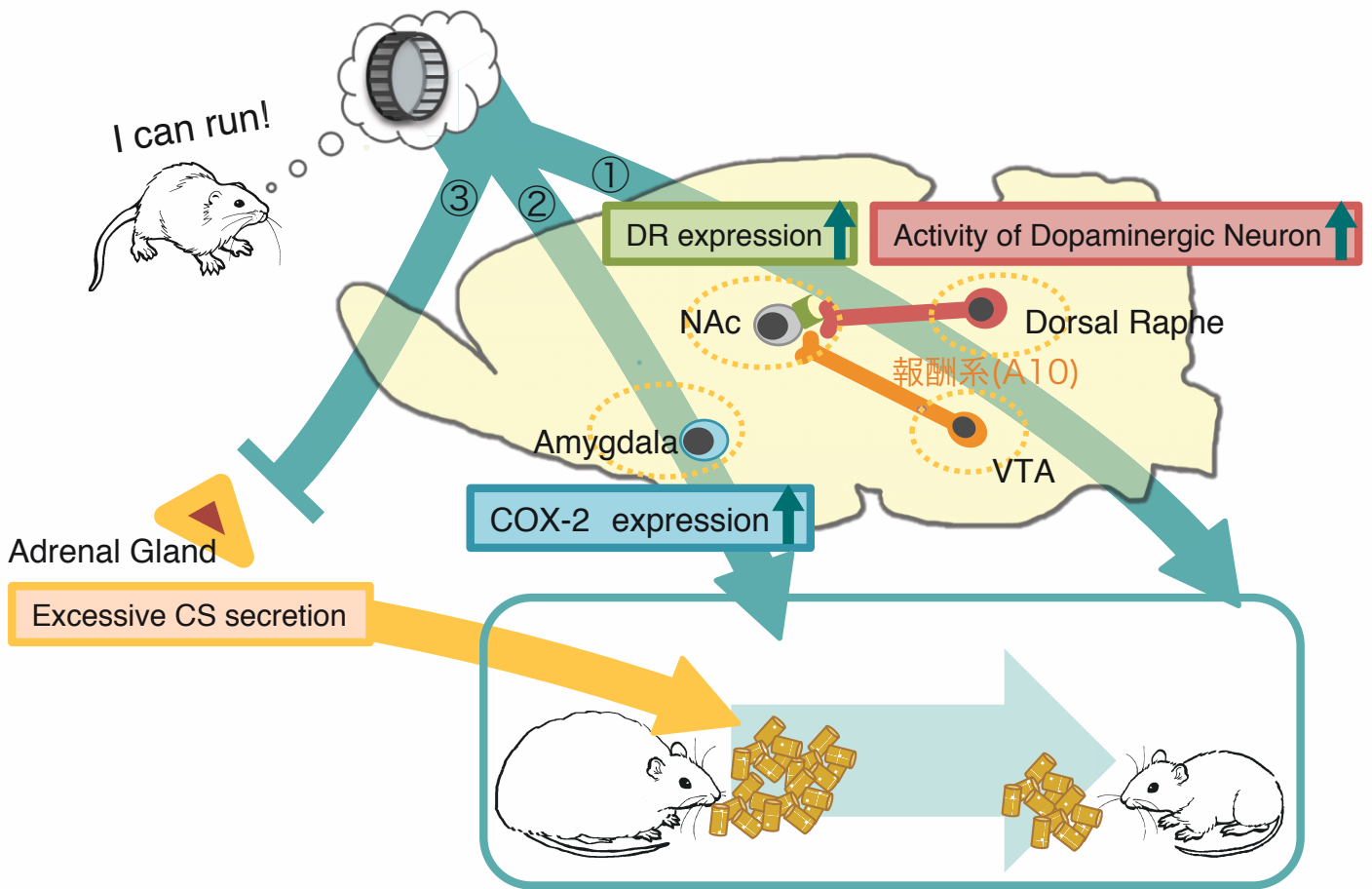


Fig. 4 自由走行運動による摂食制御機構

コルチコステロン分泌増加はTGの過食の原因である。また、自由走行運動によってTGの過食が正常化される。この効果には、実際の走行運動よりも、走行運動できる飼育環境にいることが、摂食量を正常に保つ機構において重要な役割を果たしていると考えられる。

自由走行運動は、①背側縫線核のドーパミンニューロンを興奮させ、側坐核のドーパミン受容体を増加させることで、餌の代替となる報酬として機能する、②扁桃体でCOX-2を増加させることでプロスタグランジン系を介して、摂食量を抑制する、③副腎肥大とコルチコステロンの分泌を抑制する、という3つの機序を介して摂食量を制御していると考えられる。

NAc: 側坐核、DR: ドーパミン受容体 CS; コルチコステロン

引用文献

Ahima RS, Harlan RE (1990). Charting of type II glucocorticoid receptor-like immunoreactivity in the rat central nervous system. *Neuroscience*. **39**, 579-604.

Ahrens RA, Berdanie Cd, Bishop CL (1972). EFFECT OF AGE AND DIETARY CARBOHYDRATE SOURCE ON RESPONSES OF RATS TO FORCED EXERCISE. *Journal of Nutrition*. **102**.

Amir S, Schiavetto A (1990). Injection of prostaglandin E2 into the anterior hypothalamic preoptic area activates brown adipose tissue thermogenesis in the rat. *Brain Res*. **528**, 138-142.

Anand BK, Brobeck JR (1951). Hypothalamic Control of Food Intake in Rats and Cats: *Yale J Biol Med*. **24**, pp. 123–140.

Bae UJ, Park SH, Jung SY, Park BH, Chae SW (2015). Hypoglycemic effects of aqueous persimmon leaf extract in a murine model of diabetes. *Mol Med Rep*. **12**, 2547-2554.

Baik JH (2013). Dopamine signaling in food addiction: role of dopamine D2 receptors. *BMB Rep*. **46**, 519-526.

Barnes PJ, Adcock IM (2009). Glucocorticoid resistance in inflammatory diseases. *Lancet*. **373**, 1905-1917.

Belke TW (1997). Running and responding reinforced by the opportunity to run: Effect of reinforcer duration. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*. **67**.

Belke TW, Wagner JP (2005). The reinforcing property and the rewarding aftereffect of wheel running in rats: a combination of two paradigms. *Behavioural Processes*. **68**.

Bello NT, Hajnal A (2010). Dopamine and binge eating behaviors. *Pharmacol Biochem Behav*. **97**, 25-33.

Berthoud HR, Patterson LM (1996). Anatomical relationship between vagal afferent fibers and CCK-immunoreactive entero-endocrine cells in the rat small intestinal mucosa. *Acta Anat (Basel)*. **156**, 123-131.

Bi S, Moran TH (2016). Obesity in the Otsuka Long Evans Tokushima Fatty Rat: Mechanisms and Discoveries. *Front Nutr*. **3**, 21.

Bi S, Scott KA, Hyun J, Ladenheim EE, Moran TH (2005). Running wheel activity prevents hyperphagia and obesity in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats: Role of hypothalamic signaling. *Endocrinology*. **146**.

Bittencourt JC, Presse F, Arias C, Peto C, Vaughan J, Nahon JL, Vale W, Sawchenko PE (1992). The melanin-concentrating hormone system of the rat brain: an immuno- and hybridization histochemical characterization. *J Comp Neurol*. **319**, 218-245.

Boersma GJ, Barf RP, Benthem L, van Dijk G, Scheurink AJ (2012). Forced and voluntary exercise counteract insulin resistance in rats: the role of coping style. *Horm Behav*. **62**, 93-98.

Bohlooly YM, Olsson B, Bruder CE, Linden D, Sjogren K, Bjursell M, Egecioglu E, Svensson L, Brodin P, Waterton JC, Isaksson OG, Sundler F, Ahren B, Ohlsson C, Oscarsson J, Tornell J (2005). Growth hormone overexpression in the central nervous system results in hyperphagia-induced obesity associated with insulin resistance and dyslipidemia. *Diabetes*. **54**, 51-62.

Brene S, Bjornebekk A, Aberg E, Mathe AA, Olson L, Werme M (2007). Running is rewarding and antidepressive. *Physiology & Behavior*. **92**.

Brogan IJ, Murray IA, Cerillo G, Needham M, White A, Davis JR (1999). Interaction of glucocorticoid receptor isoforms with transcription factors AP-1 and NF-kappaB: lack of effect of glucocorticoid receptor beta. *Mol Cell Endocrinol*. **157**, 95-104.

Bugajski J, Gadek-Michalska A, Glod R, Bugajski AJ (2001). Effect of social stress on COX-1 and COX-2-induced alterations in the adrenergic agonists-evoked hypothalamic-pituitary-adrenal responses. *J Physiol Pharmacol*. **52**, 811-822.

Campbell JE, Kiraly MA, Atkinson DJ, D'Souza A M, Vranic M, Riddell MC (2010). Regular exercise prevents the development of hyperglucocorticoidemia via adaptations in the brain and adrenal glands in male Zucker diabetic fatty rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* **299**, R168-176.

Campfield LA, Smith FJ, Guisez Y, Devos R, Burn P (1995). RECOMBINANT MOUSE OB PROTEIN - EVIDENCE FOR A PERIPHERAL SIGNAL LINKING ADIPOSITY AND CENTRAL NEURAL NETWORKS. *Science.* **269**.

Cecim M, Ghosh PK, Esquifino AI, Began T, Wagner TE, Yun JS, Bartke A (1991). Elevated corticosterone levels in transgenic mice expressing human or bovine growth hormone genes. *Neuroendocrinology.* **53**, 313-316.

Chaouloff F (1997). Effects of acute physical exercise on central serotonergic systems. *Med Sci Sports Exerc.* **29**, 58-62.

Chen AS, Marsh DJ, Trumbauer ME, Frazier EG, Guan XM, Yu H, Rosenblum CI, Vongs A, Feng Y, Cao L, Metzger JM, Strack AM, Camacho RE, Mellin TN, Nunes CN, Min W, Fisher J, Gopal-Truter S, MacIntyre DE, Chen HY, Van der Ploeg LH (2000). Inactivation of the mouse melanocortin-3 receptor results in increased fat mass and reduced lean body mass. *Nat Genet.* **26**, 97-102.

Chen H, Charlat O, Tartaglia LA, Woolf EA, Weng X, Ellis SJ, Lakey ND, Culpepper J, Moore KJ, Breitbart RE, Duyk GM, Tepper RI, Morgenstern JP (1996). Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell.* **84**, 491-495.

Clark JA, Flick RB, Pai LY, Szalayova I, Key S, Conley RK, Deutch AY, Hutson PH, Mezey E (2008). Glucocorticoid modulation of tryptophan hydroxylase-2 protein in raphe nuclei and 5-hydroxytryptophan concentrations in frontal cortex of C57/Bl6 mice. *Mol Psychiatry.* **13**, 498-506.

Coppin G (2016). The anterior medial temporal lobes: Their role in food intake and body weight regulation. *Physiol Behav.* **167**, 60-70.

Cunha MP, Oliveira A, Pazini FL, Machado DG, Bettio LE, Budni J, Aguiar AS, Jr., Martins DF, Santos AR, Rodrigues AL (2013). The antidepressant-like effect of physical activity on a voluntary running wheel. *Med Sci Sports Exerc.* **45**, 851-859.

Czyrak A, Chocyk A (2001). Search for the presence of glucocorticoid receptors in dopaminergic neurons of rat ventral tegmental area and substantia nigra. *Pol J Pharmacol.* **53**, 681-684.

Dallman MF, Pecoraro NC, la Fleur SE (2005). Chronic stress and comfort foods: self-medication and abdominal obesity. *Brain Behav Immun.* **19**, 275-280.

Darlington TM, McCarthy RD, Cox RJ, Ehringer MA (2014). Mesolimbic transcriptional response to hedonic substitution of voluntary exercise and voluntary ethanol consumption. *Behav Brain Res.* **259**, 313-320.

Darlington TM, McCarthy RD, Cox RJ, Miyamoto-Ditmon J, Gallego X, Ehringer MA (2016). Voluntary wheel running reduces voluntary consumption of ethanol in mice: identification of candidate genes through striatal gene expression profiling. *Genes Brain Behav.* **15**, 474-490.

De Smet B, Depoortere I, Moechars D, Swennen Q, Moreaux B, Cryns K, Tack J, Buyse J, Coulie B, Peeters TL (2006). Energy homeostasis and gastric emptying in ghrelin knockout mice. *J Pharmacol Exp Ther.* **316**, 431-439.

Eckel LA, Moore SR (2004). Diet-induced hyperphagia in the rat is influenced by sex and exercise. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology.* **287**.

Elander L, Engstrom L, Hallbeck M, Blomqvist A (2007). IL-1beta and LPS induce anorexia by distinct mechanisms differentially dependent on microsomal prostaglandin E synthase-1. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* **292**, R258-267.

Elias CF, Lee C, Kelly J, Aschkenasi C, Ahima RS, Couceyro PR, Kuhar MJ, Saper CB, Elmquist JK (1998). Leptin activates hypothalamic CART neurons projecting to the spinal cord. *Neuron.* **21**, 1375-1385.

Engelmann AJ, Aparicio MB, Kim A, Sobieraj JC, Yuan CJ, Grant Y, Mandyam CD (2014). Chronic wheel running reduces maladaptive patterns of methamphetamine intake: regulation by attenuation of methamphetamine-induced neuronal nitric oxide synthase. *Brain Struct Funct.* **219**, 657-672.

Epel E, Jimenez S, Brownell K, Stroud L, Stoney C, Niaura R (2004). Are stress eaters at risk for the metabolic syndrome? *Ann N Y Acad Sci.* **1032**, 208-210.

COUNCIL OF EUROPE (2006). *European Convention For The Protection Of Vertebrate Animals Used For Experimental and Other Scientific Purposes*. Strasbourg, pp. 1-109.

Fan W, Boston BA, Kesterson RA, Hruby VJ, Cone RD (1997). Role of melanocortineric neurons in feeding and the agouti obesity syndrome. *Nature.* **385**, 165-168.

Farias MM, Cuevas AM, Rodriguez F (2011). Set-point theory and obesity. *Metab Syndr Relat Disord.* **9**, 85-89.

Ferrari P (2010). The role of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in human hypertension. *Biochim Biophys Acta.* **1802**, 1178-1187.

Furuhata Y, Kagaya R, Hirabayashi K, Ikeda A, Chang KT, Nishihara M, Takahashi M (2000). Development of obesity in transgenic, rats with low circulating growth hormone levels: involvement of leptin resistance. *European Journal of Endocrinology.* **143**.

Girault EM, Yi CX, Fliers E, Kalsbeek A (2012). Orexins, feeding, and energy balance. *Prog Brain Res.* **198**, 47-64.

Goebel-Stengel M, Wang L (2013). Central and peripheral expression and distribution of NUCB2/nesfatin-1. *Curr Pharm Des.* **19**, 6935-6940.

Gomez-Merino D, Bequet F, Berthelot M, Chennaoui M, Guezennec CY (2001). Site-dependent effects of an acute intensive exercise on extracellular 5-HT and 5-HIAA levels in rat brain. *Neurosci Lett.* **301**, 143-146.

Gomez-Pinilla F, So V, Kesslak JP (1998). Spatial learning and physical activity contribute to the induction of fibroblast growth factor: neural substrates for increased cognition associated with exercise. *Neuroscience*. **85**, 53-61.

Groesz LM, McCoy S, Carl J, Saslow L, Stewart J, Adler N, Laraia B, Epel E (2012). What is eating you? Stress and the drive to eat. *Appetite*. **58**, 717-721.

Harris RB (1990). Role of set-point theory in regulation of body weight. *Faseb j*. **4**, 3310-3318.

Haskell-Luevano C, Schaub JW, Andreasen A, Haskell KR, Moore MC, Koerper LM, Rouzaud F, Baker HV, Millard WJ, Walter G, Litherland SA, Xiang Z (2009). Voluntary exercise prevents the obese and diabetic metabolic syndrome of the melanocortin-4 receptor knockout mouse. *Faseb j*. **23**, 642-655.

Herman JP, Ostrander MM, Mueller NK, Figueiredo H (2005). Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. **29**, 1201-1213.

HETHERINGTON AW, RANSON SW (1942). The spontaneous activity and food intake of rat with hypothalamic lesions: Amer. J. Physiol., pp. 609-617.

Higuchi T, Mizuno A, Narita K, Ichimaru T, Murata T (2012). Leptin resistance does not induce hyperphagia in the rat. *J Physiol Sci*. **62**, 45-51.

Hozumi H, Yamanouchi K, Nishihara M (2006). Involvement of neuropeptide Y in hyperphagia in human growth hormone transgenic rats. *Journal of Veterinary Medical Science*. **68**.

Hwang IK, Yi SS, Yoo KY, Park OK, Yan B, Kim IY, Kim YN, Song W, Moon SM, Won MH, Seong JK, Yoon YS (2010a). Effects of treadmill exercise on cyclooxygenase-2 in the hippocampus in type 2 diabetic rats: correlation with the neuroblasts. *Brain Res*. **1341**, 84-92.

Hwang IK, Yi SS, Yoo KY, Park OK, Yan B, Kim IY, Kim YN, Song W, Moon SM, Won MH, Seong JK, Yoon YS (2010b). Effects of treadmill exercise on cyclooxygenase-2 in the hippocampus in type 2 diabetic rats: correlation with the neuroblasts. *Brain Res.* **1341**, 84-92.

Ikeda A, Matsuyama S, Nishihara M, Tojo H, Takahashi M (1994). CHANGES IN ENDOGENOUS GROWTH-HORMONE SECRETION AND ONSET OF PUBERTY IN TRANSGENIC RATS EXPRESSING HUMAN GROWTH-HORMONE GENE. *Endocrine Journal.* **41**.

Ingle DJ (1954). Permissive action of hormones. *J Clin Endocrinol Metab.* **14**, 1272-1274.

Iversen IH (1993). TECHNIQUES FOR ESTABLISHING SCHEDULES WITH WHEEL RUNNING AS REINFORCEMENT IN RATS. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior.* **60**.

Iwamoto Y, Nishihara M, Takahashi M (1999). VMH lesions reduce excessive running under the activity-stress paradigm in the rat. In *Physiol Behav*. United States, pp. 803-808.

Johnson PM, Kenny PJ (2010). Dopamine D2 receptors in addiction-like reward dysfunction and compulsive eating in obese rats. *Nat Neurosci.* **13**, 635-641.

Johnson PM, Vogt SK, Burney MW, Muglia LJ (2002). COX-2 inhibition attenuates anorexia during systemic inflammation without impairing cytokine production. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* **282**, E650-656.

Kelly ME, Loughrey D, Lawlor BA, Robertson IH, Walsh C, Brennan S (2014). The impact of exercise on the cognitive functioning of healthy older adults: a systematic review and meta-analysis. *Ageing Res Rev.* **16**, 12-31.

Kim Y, Yang HY, Kim AJ, Lim Y (2013). Academic stress levels were positively associated with sweet food consumption among Korean high-school students. *Nutrition.* **29**, 213-218.

King NA, Burley VJ, Blundell JE (1994). EXERCISE-INDUCED SUPPRESSION OF APPETITE - EFFECTS ON FOOD-INTAKE AND IMPLICATIONS FOR ENERGY-BALANCE. *European Journal of Clinical Nutrition*. **48**.

Kobilo T, Liu QR, Gandhi K, Mughal M, Shaham Y, van Praag H (2011). Running is the neurogenic and neurotrophic stimulus in environmental enrichment. *Learn Mem*. **18**, 605-609.

Kohda K, Harada K, Kato K, Hoshino A, Motohashi J, Yamaji T, Morinobu S, Matsuoka N, Kato N (2007). Glucocorticoid receptor activation is involved in producing abnormal phenotypes of single-prolonged stress rats: a putative post-traumatic stress disorder model. *Neuroscience*. **148**, 22-33.

Komatsuda M, Yamanouchi K, Matsuwaki T, Nishihara M (2014). Free access to running wheels abolishes hyperphagia in human growth hormone transgenic rats. *J Vet Med Sci*. **76**, 993-999.

Krahn DD, Gosnell BA (1989). Corticotropin-releasing hormone: possible role in eating disorders. *Psychiatr Med*. **7**, 235-245.

Kristensen P, Judge ME, Thim L, Ribel U, Christjansen KN, Wulff BS, Clausen JT, Jensen PB, Madsen OD, Vrang N, Larsen PJ, Hastrup S (1998). Hypothalamic CART is a new anorectic peptide regulated by leptin. *Nature*. **393**, 72-76.

Kruger K, Bredehoft J, Mooren FC, Rummel C (2016). Different effects of strength and endurance exercise training on COX-2 and mPGES expression in mouse brain are independent of peripheral inflammation. *J Appl Physiol (1985)*. **121**, 248-254.

Kuznetsov IE, Kazakov VN (2000). Integration of thermal and osmotic afferent signals in the preoptic/anterior hypothalamic neurons. *Neuroscience*. **99**, 363-371.

Kenneth L. Becker, John P. Bilezikian, William J. Bremner, Wellington Hung, C. Ronald Kahn, D. Lynn Loriaux, Eric S. Nylén, Robert W. Rebar, Gary L. Robertson, Richard H. Snider Jr., Leonard Wartofsky, Meeta Sharma (2001). Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism Third Edition: LWW, pp. 716.

la Fleur SE, Luijendijk MC, van der Zwaal EM, Brans MA, Adan RA (2014). The snacking rat as model of human obesity: effects of a free-choice high-fat high-sugar diet on meal patterns. *Int J Obes (Lond)*. **38**, 643-649.

Lam DD, Garfield AS, Marston OJ, Shaw J, Heisler LK (2010). Brain serotonin system in the coordination of food intake and body weight. *Pharmacol Biochem Behav*. **97**, 84-91.

Laugero KD, Falcon LM, Tucker KL (2011). Relationship between perceived stress and dietary and activity patterns in older adults participating in the Boston Puerto Rican Health Study. *Appetite*. **56**, 194-204.

Lechner SM, Valentino RJ (1999). Glucocorticoid receptor-immunoreactivity in corticotrophin-releasing factor afferents to the locus coeruleus. *Brain Res*. **816**, 17-28.

Lett BT, Grant VL, Byrne MJ, Koh MT (2000). Pairings of a distinctive chamber with the aftereffect of wheel running produce conditioned place preference. *Appetite*. **34**.

Levine AS, Morley JE (1981). The effect of prostaglandins (PGE₂ and PGF₂ alpha) on food intake in rats. *Pharmacol Biochem Behav*. **15**, 735-738.

Levine AS, Rogers B, Kneip J, Grace M, Morley JE (1983). Effect of centrally administered corticotropin releasing factor (CRF) on multiple feeding paradigms. *Neuropharmacology*. **22**, 337-339.

Liang NC, Bello NT, Moran TH (2015). Wheel running reduces high-fat diet intake, preference and mu-opioid agonist stimulated intake. *Behav Brain Res*. **284**, 1-10.

Lovatel GA, Bertoldi K, Elsner VR, Vanzella C, Moyses Fdos S, Spindler C, Funck VR, Pereira LM, de Oliveira CV, Oliveira MS, Netto CA, Siqueira IR (2012).

Time-dependent effects of treadmill exercise on aversive memory and cyclooxygenase pathway function. *Neurobiol Learn Mem*. **98**, 182-187.

Maekawa F, Toyoda Y, Torii N, Miwa I, Thompson RC, Foster DL, Tsukahara S, Tsukamura H, Maeda K (2000). Localization of glucokinase-like immunoreactivity in

the rat lower brain stem: for possible location of brain glucose-sensing mechanisms. *Endocrinology*. **141**, 375-384.

Makimura H, Mizuno TM, Roberts J, Silverstein J, Beasley J, Mobbs CV (2000). Adrenalectomy reverses obese phenotype and restores hypothalamic melanocortin tone in leptin-deficient ob/ob mice. *Diabetes*. **49**, 1917-1923.

Makino S, Gold PW, Schulkin J (1994). Effects of corticosterone on CRH mRNA and content in the bed nucleus of the stria terminalis; comparison with the effects in the central nucleus of the amygdala and the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Brain Res*. **657**, 141-149.

Marks JL, Waite K (1996). Some acute effects of intracerebroventricular neuropeptide Y on insulin secretion and glucose metabolism in the rat. *J Neuroendocrinol*. **8**, 507-513.

Matthews GA, Nieh EH, Vander Weele CM, Halbert SA, Pradhan RV, Yosafat AS, Globber GF, Izadmehr EM, Thomas RE, Lacy GD, Wildes CP, Ungless MA, Tye KM (2016). Dorsal Raphe Dopamine Neurons Represent the Experience of Social Isolation. *Cell*. **164**, 617-631.

McCann BS, Warnick GR, Knopp RH (1990). Changes in plasma lipids and dietary intake accompanying shifts in perceived workload and stress. *Psychosom Med*. **52**, 97-108.

Milkovic S, Bates RW (1964). PITUITARY-ADRENOCORTICAL SYSTEM DURING GROWTH OF A TRANSPLANTABLE PITUITARY TUMOR AND AFTER TUMOR REMOVAL. *Endocrinology*. **74**, 617-626.

Miller TL, Mayo KE (1997). Glucocorticoids regulate pituitary growth hormone-releasing hormone receptor messenger ribonucleic acid expression. *Endocrinology*. **138**, 2458-2465.

Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, Wareham NJ, Sewter CP, Digby JE, Mohammed SN, Hurst JA, Cheetham CH, Earley AR, Barnett AH, Prins JB,

Orahilly S (1997). Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature*. **387**.

Moody L, Liang J, Choi PP, Moran TH, Liang NC (2015). Wheel running decreases palatable diet preference in Sprague-Dawley rats. *Physiol Behav*. **150**, 53-63.

Morimoto M, Morita N, Ozawa H, Yokoyama K, Kawata M (1996). Distribution of glucocorticoid receptor immunoreactivity and mRNA in the rat brain: an immunohistochemical and in situ hybridization study. *Neurosci Res*. **26**, 235-269.

Nadjar A, Sauvant J, Combe C, Parnet P, Konsman JP (2010). Brain cyclooxygenase-2 mediates interleukin-1-induced cellular activation in preoptic and arcuate hypothalamus, but not sickness symptoms. *Neurobiol Dis*. **39**, 393-401.

Nakagawa K, Akikawa K, Matsubara M, Kubo M, Ishizuka T, Obara T (1987). Biphasic effects of dexamethasone on growth hormone release in vitro. *Endocrinol Jpn*. **34**, 947-953.

Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, Matsukura S (2001). A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature*. **409**.

National Research Council Of The National Academies (2011). Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8th edition. Washington (DC): National Academies Press (US).

Newton R, Cambridge L, Hart LA, Stevens DA, Lindsay MA, Barnes PJ (2000). The MAP kinase inhibitors, PD098059, UO126 and SB203580, inhibit IL-1beta-dependent PGE(2) release via mechanistically distinct processes. *Br J Pharmacol*. **130**, 1353-1361.

Nishida Y, Tandai-Hiruma M, Kemuriyama T, Hagsawa K (2012). Long-term blood pressure control: is there a set-point in the brain? *J Physiol Sci*. **62**, 147-161.

Ohinata K, Suetsugu K, Fujiwara Y, Yoshikawa M (2006). Activation of prostaglandin E receptor EP4 subtype suppresses food intake in mice. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. **81**, 31-36.

Ohinata K, Takagi K, Biyajima K, Fujiwara Y, Fukumoto S, Eguchi N, Urade Y, Asakawa A, Fujimiya M, Inui A, Yoshikawa M (2008). Central prostaglandin D(2) stimulates food intake via the neuropeptide Y system in mice. *FEBS Lett.* **582**, 679-684.

Oliver G, Wardle J (1999). Perceived effects of stress on food choice. *Physiol Behav.* **66**, 511-515.

Ollmann MM, Wilson BD, Yang YK, Kerns JA, Chen Y, Gantz I, Barsh GS (1997). Antagonism of central melanocortin receptors in vitro and in vivo by agouti-related protein. *Science.* **278**, 135-138.

Oomura Y, Nakamura T, Sugimori M, Yamada Y (1975). Effect of free fatty acid on the rat lateral hypothalamic neurons. *Physiol Behav.* **14**, 483-486.

Oomura Y, Ono T, Ooyama H, Wayner MJ (1969). Glucose and osmosensitive neurones of the rat hypothalamus. *Nature.* **222**, 282-284.

Osaka T (2008). Blockade of prostaglandin E2-induced thermogenesis by unilateral microinjection of GABAA receptor antagonist into the preoptic area. *Brain Res.* **1230**, 107-114.

Packard AE, Ghosal S, Herman JP, Woods SC, Ulrich-Lai YM (2014). Chronic variable stress improves glucose tolerance in rats with sucrose-induced prediabetes. *Psychoneuroendocrinology.* **47**, 178-188.

Palmiter RD (2007). Is dopamine a physiologically relevant mediator of feeding behavior? *Trends Neurosci.* **30**, 375-381.

Park Y, Booth FW, Lee S, Laye MJ, Zhang C (2012). Physical activity opposes coronary vascular dysfunction induced during high fat feeding in mice. *J Physiol.* **590**, 4255-4268.

Pecchi E, Dallaporta M, Thirion S, Salvat C, Berenbaum F, Jean A, Troadec JD (2006). Involvement of central microsomal prostaglandin E synthase-1 in IL-1beta-induced anorexia. *Physiol Genomics*. **25**, 485-492.

Pecoraro N, Reyes F, Gomez F, Bhargava A, Dallman MF (2004). Chronic stress promotes palatable feeding, which reduces signs of stress: feedforward and feedback effects of chronic stress. *Endocrinology*. **145**, 3754-3762.

Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, Collins F (1995). EFFECTS OF THE OBESE GENE-PRODUCT ON BODY-WEIGHT REGULATION IN OB/OB MICE. *Science*. **269**.

Qian S, Chen H, Weingarh D, Trumbauer ME, Novi DE, Guan X, Yu H, Shen Z, Feng Y, Frazier E, Chen A, Camacho RE, Shearman LP, Gopal-Truter S, MacNeil DJ, Van der Ploeg LH, Marsh DJ (2002). Neither agouti-related protein nor neuropeptide Y is critically required for the regulation of energy homeostasis in mice. *Mol Cell Biol*. **22**, 5027-5035.

Quax RA, Manenschijn L, Koper JW, Hazes JM, Lamberts SW, van Rossum EF, Feelders RA (2013). Glucocorticoid sensitivity in health and disease. *Nat Rev Endocrinol*. **9**, 670-686.

Redolat R, Mesa-Gresa P (2012). Potential benefits and limitations of enriched environments and cognitive activity on age-related behavioural decline. *Curr Top Behav Neurosci*. **10**, 293-316.

Riddell MC, Partington SL, Stupka N, Armstrong D, Rennie C, Tarnopolsky MA (2003). Substrate utilization during exercise performed with and without glucose ingestion in female and male endurance trained athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. **13**, 407-421.

Roosendaal B, McReynolds JR, McGaugh JL (2004). The basolateral amygdala interacts with the medial prefrontal cortex in regulating glucocorticoid effects on working memory impairment. *J Neurosci*. **24**, 1385-1392.

Routtenberg A, Kuznesof AW (1967). Self-starvation of rats living in activity wheels on a restricted feeding schedule. *J Comp Physiol Psychol.* **64**, 414-421.

Russell JC, Amy RM (1986). PLASMA-LIPIDS AND OTHER FACTORS IN THE LA/N CORPULENT RAT IN THE PRESENCE OF CHRONIC EXERCISE AND FOOD RESTRICTION. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology.* **64**.

Sainsbury A, Cusin I, Rohner-Jeanrenaud F, Jeanrenaud B (1997). Adrenalectomy prevents the obesity syndrome produced by chronic central neuropeptide Y infusion in normal rats. *Diabetes.* **46**, 209-214.

Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, Williams SC, Richardson JA, Kozlowski GP, Wilson S, Arch JR, Buckingham RE, Haynes AC, Carr SA, Annan RS, McNulty DE, Liu WS, Terrett JA, Elshourbagy NA, Bergsma DJ, Yanagisawa M (1998). Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell.* **92**, 573-585.

Sanchez-Alavez M, Klein I, Brownell SE, Tabarean IV, Davis CN, Conti B, Bartfai T (2007). Night eating and obesity in the EP3R-deficient mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **104**, 3009-3014.

Schellekens H, Clarke G, Jeffery IB, Dinan TG, Cryan JF (2012). Dynamic 5-HT_{2C} receptor editing in a mouse model of obesity. *PLoS One.* **7**, e32266.

Schweitzer NB, Alessio HM, Berry SD, Roeske K, Hagerman AE (2006). Exercise-induced changes in cardiac gene expression and its relation to spatial maze performance. *Neurochem Int.* **48**, 9-16.

Sharma S, Fulton S (2013). Diet-induced obesity promotes depressive-like behaviour that is associated with neural adaptations in brain reward circuitry. *Int J Obes (Lond).* **37**, 382-389.

Shibata S, Ueno C, Ito T, Yamanouchi K, Matsuwaki T, Nishihara M (2010). Skeletal muscle growth defect in human growth hormone transgenic rat is accompanied by phenotypic changes in progenitor cells. *Age (Dordr).* **32**, 239-253.

Shimada M, Tritos NA, Lowell BB, Flier JS, Maratos-Flier E (1998). Mice lacking melanin-concentrating hormone are hypophagic and lean. *Nature*. **396**, 670-674.

Shimizu T, Tanaka K, Nakamura K, Taniuchi K, Yawata T, Higashi Y, Ueba T, Dimitriadis F, Shimizu S, Yokotani K, Saito M (2014). Possible involvement of brain prostaglandin E2 and prostanoid EP3 receptors in prostaglandin E2 glycerol ester-induced activation of central sympathetic outflow in the rat. *Neuropharmacology*. **82**, 19-27.

Shimomura Y, Bray GA, Lee M (1987). Adrenalectomy and steroid treatment in obese (ob/ob) and diabetic (db/db) mice. *Horm Metab Res*. **19**, 295-299.

Smith MA, Lynch WJ (2011). Exercise as a potential treatment for drug abuse: evidence from preclinical studies. *Front Psychiatry*. **2**, 82.

Sobieraj JC, Kim A, Fannon MJ, Mandyam CD (2016). Chronic wheel running-induced reduction of extinction and reinstatement of methamphetamine seeking in methamphetamine dependent rats is associated with reduced number of periaqueductal gray dopamine neurons. *Brain Struct Funct*. **221**, 261-276.

Stern JS, Johnson PR (1977). SPONTANEOUS ACTIVITY AND ADIPOSE CELLULARITY IN GENETICALLY OBESE ZUCKER RAT (FAFA). *Metabolism-Clinical and Experimental*. **26**.

Stranahan AM, Lee K, Martin B, Maudsley S, Golden E, Cutler RG, Mattson MP (2009). Voluntary exercise and caloric restriction enhance hippocampal dendritic spine density and BDNF levels in diabetic mice. *Hippocampus*. **19**, 951-961.

Stratford TR, Wirtshafter D (1990). Ascending dopaminergic projections from the dorsal raphe nucleus in the rat. *Brain Res*. **511**, 173-176.

Swallow JG, Koteja P, Carter PA, Garland T (2001). Food consumption and body composition in mice selected for high wheel-running activity. *Journal of Comparative Physiology B-Biochemical Systemic and Environmental Physiology*. **171**.

Swanson LW, Simmons DM (1989). Differential steroid hormone and neural influences on peptide mRNA levels in CRH cells of the paraventricular nucleus: a hybridization histochemical study in the rat. *J Comp Neurol.* **285**, 413-435.

Tamura H, Kamegai J, Sugihara H, Kineman RD, Frohman LA, Wakabayashi I (2000). Glucocorticoids regulate pituitary growth hormone secretagogue receptor gene expression. *J Neuroendocrinol.* **12**, 481-485.

Tanaka M, McAllen RM (2005). A subsidiary fever center in the medullary raphe? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* **289**, R1592-1598.

Tataranni PA, Larson DE, Snitker S, Young JB, Flatt JP, Ravussin E (1996). Effects of glucocorticoids on energy metabolism and food intake in humans. *Am J Physiol.* **271**, E317-325.

Tatemoto K, Carlquist M, Mutt V (1982). Neuropeptide Y--a novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide. *Nature.* **296**, 659-660.

Tomlinson JW, Walker EA, Bujalska IJ, Draper N, Lavery GG, Cooper MS, Hewison M, Stewart PM (2004). 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1: a tissue-specific regulator of glucocorticoid response. *Endocr Rev.* **25**, 831-866.

Toth LA, Kregel K, Leon L, Musch TI (2011). Environmental enrichment of laboratory rodents: the answer depends on the question. *Comp Med.* **61**, 314-321.

Tryon MS, Carter CS, Decant R, Laugero KD (2013). Chronic stress exposure may affect the brain's response to high calorie food cues and predispose to obesogenic eating habits. *Physiol Behav.* **120**, 233-242.

Uchoa ET, Aguilera G, Herman JP, Fiedler JL, Deak T, de Sousa MB (2014). Novel aspects of glucocorticoid actions. *J Neuroendocrinol.* **26**, 557-572.

van Praag H, Christie BR, Sejnowski TJ, Gage FH (1999). Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **96**, 13427-13431.

Walther DJ, Bader M (2003). A unique central tryptophan hydroxylase isoform. *Biochem Pharmacol.* **66**, 1673-1680.

Weaver JU, Thaventhiran L, Noonan K, Burrin JM, Taylor NF, Norman MR, Monson JP (1994). The effect of growth hormone replacement on cortisol metabolism and glucocorticoid sensitivity in hypopituitary adults. *Clin Endocrinol (Oxf).* **41**, 639-648.

Wegner M, Helmich I, Machado S, Nardi AE, Arias-Carrion O, Budde H (2014). Effects of exercise on anxiety and depression disorders: review of meta- analyses and neurobiological mechanisms. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* **13**, 1002-1014.

Weinstein SE, Shide DJ, Rolls BJ (1997). Changes in food intake in response to stress in men and women: psychological factors. *Appetite.* **28**, 7-18.

Wing RR, Hill JO (2001). Successful weight loss maintenance. *Annu Rev Nutr.* **21**, 323-341.

Yamanouchi K, Yada E, Hozumi H, Ueno C, Nishihara M (2004). Analyses of hind leg skeletons in human growth hormone transgenic rats. *Exp Gerontol.* **39**, 1179-1188.

Yi SS, Hwang IK, Shin JH, Choi JH, Lee CH, Kim IY, Kim YN, Won MH, Park IS, Seong JK, Yoon YS (2010). Regulatory mechanism of hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis and neuronal changes after adrenalectomy in type 2 diabetes. *J Chem Neuroanat.* **40**, 130-139.

Zeeni N, Daher C, Fromentin G, Tome D, Darcel N, Chaumontet C (2013). A cafeteria diet modifies the response to chronic variable stress in rats. *Stress.* **16**, 211-219.

Zhang ZH, Yu Y, Wei SG, Nakamura Y, Nakamura K, Felder RB (2011). EP(3) receptors mediate PGE(2)-induced hypothalamic paraventricular nucleus excitation and sympathetic activation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* **301**, H1559-1569.

Zlebnik NE, Anker JJ, Gliddon LA, Carroll ME (2010). Reduction of extinction and reinstatement of cocaine seeking by wheel running in female rats. *Psychopharmacology (Berl).* **209**, 113-125.

Kim E. Barrett, Susan M. Barman, Scott Boitano, Heddwen L. Brooks: “ギャノンダ生理学 (原書 24 版) ”, 丸善出版 (2014)

日本獣医内科学アカデミー: “獣医内科学—小動物編—”, 文永堂出版 (2005)

平田結喜緒, 成瀬光栄: “クッシング症候群診療マニュアル”, 診断と治療社 (2009)

藤澤彩乃 2011 成長ホルモンパルス形成機構における神経ペプチド Y の役割に関する研究

小松田 麦子 2012 自由走行可能な飼育環境が人成長ホルモン遺伝子導入ラットの肥満と過食に与える影響 卒業論文

関 忍 2000 成長ホルモンの分泌制御機構に関する研究. 卒業論文

謝辞

本研究の遂行あたって、終始あたたかくご指導いただき、研究をする喜びと考える楽しさを教えてくださいました、東京大学大学院農学生命科学研究科獣医生理学研究室 西原眞杉教授に深く感謝いたします。

本研究の遂行にあたって、実験の計画から得られたデータの考察の仕方まで、研究に必要なたくさんの方のことを教えてくださいました、東京大学大学院農学生命科学研究科獣医生理学研究室 山内啓太郎准教授に深く感謝いたします。

本研究の遂行にあたって、実験やデータの解析を教えてください、共に考え、悩み、成功の喜びも共にしてくださった、東京大学大学院農学生命科学研究科獣医生理学研究室 松脇貴志助教に深く感謝いたします。

本研究の遂行に必要な実験手技を教えてください、ラット呼吸代謝測定用回転ケージを快く貸していただきましたほか、研究を進める上で必要な多くの助言をいただきました、宮崎大学農学部獣医生理学研究室 村上昇教授と中原桂子准教授に深く感謝いたします。

本研究の実験に必要な切片作成と染色に協力していただきました、獣医病理学研究室の皆様、この場を借りて御礼申し上げます。

本研究は日本学術振興会の特別研究員奨励費（15J07958）の助成を受けました。研究の遂行を経済的に支えてくださった日本学術振興会に感謝いたします。

実験に必要なラットを供与いただきました、一般財団法人 動物繁殖研究所に御礼申し上げます。

研究遂行に必要な書類手続きを一手に引き受け、いつもすてきな笑顔と優しい言葉で励ましてくださった、武内恵さんに、深く感謝いたします。

研究室での生活を共にし、議論を重ね、実験を助け合った、獣医生理学研究室の卒業生、先輩、後輩の皆様感謝いたします。皆様のおかげで、本当に楽しい研究生生活を送ることができました。

本研究の実験に用いた多くのラットたちに感謝しその冥福を祈るとともに、彼らの命を無駄にしないことをここに約束します。

論文の内容の要旨

獣医学 専攻

平成25年度 博士課程入学

氏名 小松田 麦子

指導教員名 西原 眞杉

論文題目 摂食制御における自由走行運動の役割に関する研究

【背景と目的】

現代の人類、特に先進国の人々にとって肥満は大きな社会問題になっており、その一因には高カロリーな食料の食べ過ぎがある。また、摂食障害、投薬の副作用による食欲低下など、食べる量をうまく調節できない病気も存在する。よって、摂食行動の制御機構を解明し、正常な摂食量を維持するための方法を確立することが求められている。

すべての動物は生きるための栄養源を食べることで得ているため、摂食行動は動物の様々な行動の中でも重要度が極めて高い。脳の視床下部は古くより摂食制御の中枢であると考えられており、そこに存在する摂食量を増減させる多種のニューロペプチドとそれらを分泌する神経群が次々と明らかになっている。また、海馬、扁桃体、中脳など情動や報酬系を制御する部位も摂食行動に深く関わっている。さらに副腎、脂肪組織、消化管などの末梢組織から分泌されるグルココルチコイド、レプチン、グレリン等のホルモンが中枢に作用することで、栄養状態に合わせた摂食行動を可能にしている。このように、摂食の制御には非常に多くの機構が多角的に関与している。

摂食行動と同様に見られる動物の本能的な行動に、走行運動がある。実験動物のラットをランニングホイール (RW) のある飼育ケージで飼育すると、夜間には自発的な走行運動が見られ、多い個体では一晩で数千メートルを走る。また RW での自由走行運動はげっ歯類にとって餌や、ニコチン、アンフェタミンなどの中毒性のある薬物と同様に報酬として機能することが知られ、RW へ入ることを報酬にしたレバー押しの学習行動が成立するほどである。他にも、海馬における神経新生を亢進させる、認知機能を向上させるなど、自由走行運動は中枢神経へも大きな影響を与えることがわかっている。

さらに、様々な過食モデル動物を用いた実験によって、RW での自由走行運動が摂食量や餌の選択に影響することがわかってきた。著者の所属研究室で以前作出されたヒト成長ホルモン (hGH) 遺伝子導入ラット (TG) は、乳清酸性タンパク質プロモーター下流で発現する hGH が末梢血中で低濃度に、中枢で高濃度に分泌され、なおかつ内因性のラット GH の分泌が抑制されているという GH 分泌動態を示す。この TG は幼若期から同腹の野生型ラット (WT) に比べて過食と肥満を示すことから、過食性肥満のモデル動物として研

究が進められてきた。

そこで本研究では、過食モデル動物である TG を用いて、摂食制御において自由走行運動が果たす役割の、より詳細な機構を明らかにすることを目的とした。第 1 章では RW を用いて、自由走行運動が過食を示す TG の摂食量を変化させるかを調べた。第 2 章では、TG で見られる過食や脱毛、中心性肥満といった表現型からグルココルチコイド、中でもげっ歯類で最も生理活性の高いコルチコステロンの過剰分泌が起きていることを疑い、さらにこれが TG の過食に与える影響について検討した。第 3 章では、自由走行運動によって活性化する脳部位を探索し、摂食量の制御に関与する因子の同定を試みた。

【方法と結果】

第 1 章では WT と TG を RW のある飼育ケージおよび通常ケージで飼育し、自由走行運動が摂食量に与える影響を調べた。RW ケージでの飼育により、WT では摂食量は変化しなかったが、遺伝的に過食を示す TG では摂食量が減少し、WT と同量の正常な摂食量が長期間にわたって維持された。この自由走行運動が TG の摂食量を正常に保つ効果は、RW ケージでの飼育を離乳直後の 4 週齢から開始した場合と成長後の 10 週齢から開始した場合で全く同様に起きた。さらに、RW を飼育の途中で固定して走行運動を抑止すると TG の過食が即時に再発した。なお、自発的な走行量は WT では成長とともに増加したのに対し、TG では漸減し 12 週齢以降には WT の 1/10 以下にまで減少したが、摂食量への効果は変わらず維持されていた。以上より、RW での自由走行運動は TG の摂食量を正常化し、その効果は走行量や週齢には依存せず、また、可逆的なものであることがわかった。なお、これらのラットで視床下部の各種ニューロペプチドとその受容体の遺伝子発現量をリアルタイム RT-PCR により比較したが、自由走行運動による TG の摂食量の正常化に関連付けられるような発現量の変化は認められなかった。

第 2 章では、TG の体内でコルチコステロンが過剰分泌されていることを疑い、コルチコステロンが TG の摂食量に与える影響を検討した。TG の血中コルチコステロン濃度は 200 ng/ml を超える高値を示し、副腎は両側性に肥大していた。一方で血中の副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) の濃度や視床下部の副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン (CRH) の遺伝子発現量は WT-TG 間に差が認められなかった。TG に副腎摘出 (ADX) 処置をすると摂食量が減少し、WT と同程度の量が実験終了まで 2 週間以上維持された。さらにこの ADX 処置をした TG にコルチコステロンを連続的に皮下投与したところ、過食が再発した。一方で、WT においては、ADX 処置も TG の血中濃度を再現する高濃度のコルチコステロンの投与も摂食量には全く影響しなかった。以上より TG の体内では、コルチコステロンが過剰に分泌されていること、さらにコルチコステロンの摂食量増加作用への反応性が亢進していることが、過食を引き起こしていることが示唆された。

第 3 章では、自由走行運動により活性化する脳部位を探索し、摂食量の制御に関与する因子の同定を試みた。走行運動と摂食行動が活性化する暗期の初期において興奮性が変化する脳部位を特定するため、神経興奮のマーカーである c-fos の免疫組織染色法を用いて、興奮状態の変化する神経核の探索を脳全体で網羅的に行った。その結果、RW ケージで飼育していたラットでは通常ケージでの飼育に比べて、扁桃体内側核と背側縫線核の c-fos 陽性細胞数が 10 倍以上に増加していることがわかった。さらに、サンプリングの 3.5 時間前に RW を固定した場合には、この神経興奮は見られなかった。そこで次に、これらの神経興奮の変化によって摂食制御に関与する因子の発現量が変化している可能性を検討した。まず、摂食量の制御に関わる遺

伝子の候補を探索するため、DNA チップを用いた解析により扁桃体内側核と背側縫線核の遺伝子発現量を RW ケージと通常ケージで飼育した TG で比較した。扁桃体内側核では RW ケージでの飼育で発現量が 2 倍以上増加したものが 6 遺伝子、0.5 倍以下に減少したものが 13 遺伝子確認された。これらのうち、RW ケージでの飼育で発現量の増加が見られた遺伝子の中から、摂食量を減少させる作用があり、かつグルココルチコイドによって発現が抑制される性質のあるプロスタグランジン類の合成酵素である cyclooxygenase-2 (COX-2) に注目した。COX-2 阻害剤 (NS-398) を脳室内投与したところ、通常ケージ飼育下の TG では摂食量が変化しなかったが、RW ケージ飼育下の TG では摂食量減少が阻害された。このことから、自由走行運動による TG の摂食量正常化には COX-2 の働きが関与していることが示唆された。背側縫線核をサンプルに用いた DNA チップでは、摂食量の制御に関わる遺伝子発現量の変化は確認されなかった。そこで、自由走行運動により興奮した神経群が背側縫線核に細胞体が多く存在するセロトニン (5-HT) ニューロンまたはドーパミンニューロンである可能性を考え、5-HT とドーパミン合成酵素の Tyrosine Hydroxylase (TH) との c-fos の二重免疫組織染色を行った。C-fos 陽性細胞のうち 5-HT、TH と共陽性であったものはそれぞれ全体の約 5%、約 40%であった。そこで、背側縫線核に細胞体が存在するドーパミンニューロンの主な投射先である側坐核におけるドーパミン受容体の遺伝子発現量を比較したところ、WT では差が認められなかったが、TG では 1 型、2 型受容体ともに RW ケージでの飼育によって発現量が増加した。このことから、自由走行運動がドーパミンニューロンの興奮性と受容体の発現量の双方向から、ドーパミンシグナルを増強していることが示唆された。

【考察と結語】

COX-2 は感染による炎症時に生じる摂食量減少に関与することが知られている。グルココルチコイドには COX-2 の発現量を抑制する働きがあるため、高コルチコステロン血症を示す TG の中枢は COX-2 の発現上昇が起きにくい環境であると考えられる。しかし RW による COX-2 遺伝子発現量の上昇は WT と TG で同じように見られたことから、走行運動はグルココルチコイドの働きとは独立に COX-2 の発現を増加させ、摂食量を抑制できると考えられる。

また、背側縫線核のドーパミンニューロンは、側坐核や前頭皮質など、報酬系の主要な神経回路である A10 ドーパミンニューロンと類似の部位に投射している。したがって、自由走行運動は背側縫線核のドーパミンニューロン群を興奮させることで、餌の代替となる報酬として機能し、薬物と同様のメカニズムで摂食量を抑制していると考えられる。

本研究により、自由走行運動による摂食の制御機構は、古典的に代謝・摂食の制御中枢であると考えられてきた視床下部ではなく、情動や報酬を司る神経系である縫線核および扁桃体を介していることが新たに見出された。過去の研究で報告されている他の過食モデル動物を用いた実験結果では、走行運動が摂食量に与える影響は微弱あるいは一過性のものであったため、今回 TG で観察された RW ケージでの飼育によって摂食量が長期間正常に保たれるという現象は、過食の治療という面ではより望ましい効果であると言える。本研究で新たに見出された、自由走行運動が摂食量を制御する機構をターゲットにすることで、新しい摂食障害の治療法が確立されることが期待できる。