

トピックス

迷走神経を情報伝達経路とするグレリン, CCK およびPYYの摂食調節機構の検討

宮崎大学医学部第三内科

伊達 紫, 幸田 修一, 十枝内厚次, 中里 雅光

第一サントリーファーマ(株) 生物医学研究所

幸田 修一

はじめに

摂食は、中枢と末梢で産生される摂食亢進物質と抑制物質の複雑な相互作用により調節されている。液性あるいは神経性に脳に伝達された満腹および空腹情報は、視覚、嗅覚、味覚などの外界感覚刺激、さらには学習、記憶、認知、情動といった種々の因子とともに視床下部で統合され、摂食亢進系または抑制系に作用する。

本稿では迷走神経求心路を介し、摂食関連情報を中枢に伝達する消化管ペプチド；グレリン, CCK, PYYの作用機構およびグレリンとCCKの相互作用について概説する。

1. 迷走神経系と消化管ホルモン

迷走神経は消化管からの種々の情報を、脳幹を経て間脳や新皮質に伝達する第10番脳神経である。迷走神経は、内臓感覚神経である求心線維および運動神経である遠心線維からなっているが、横隔膜下迷走神経の90%近くは求心線維で構成されている。これらの神経終末は、消化管粘膜および粘膜下に分布し、消化管の物理・化学的刺激や一部の消化管ホルモンによる情報を中枢に伝達している。

上部小腸で産生される cholecystokinin (CCK) は、摂食抑制に作用するペプチドホルモンで、迷走神経求心線維末端のCCK-A受容体を介し、満腹情報を中枢に伝達することが以前から知られていた¹⁾。CCK-A受容体は、迷走神経節に存在する迷走神経求心性ニューロンで産生され、軸索流により神経末端に輸送される。さらに麻酔下ラットにCCKを投与すると、迷走神経求心線維の電気活動亢進が起こる。

最近の研究から、主に胃で産生されるグレリンや下部小腸で産生される peptide YY (PYY) も迷走神経求心路を介して摂食関連情報を中枢に伝達していることが明らかになった。

2. グレリンおよびPYYの迷走神経を介する摂食調節機構

オーファン受容体GHS-R (growth hormone secretagogue receptor, 成長ホルモン分泌促進因子受容体)の内因性リガンドとして発見されたグレリンは、成長ホルモン分泌促進作用のみならず強力な摂食亢進作用を持つ新規消化管ペプチドである^{2,3)}。グレリンはラット静脈内投与によって1 nmolから濃度依存性に摂食亢進作用を示すが、迷走神経遮断ラットにおいてはその作用が完全にキャンセルされる(図1)⁴⁾。また、グレリンのラット静脈内投与は、摂食亢進に作用する視床下部弓状核のNPY/AgRP含有ニューロンを活性化するが、迷走神経遮断ラッ

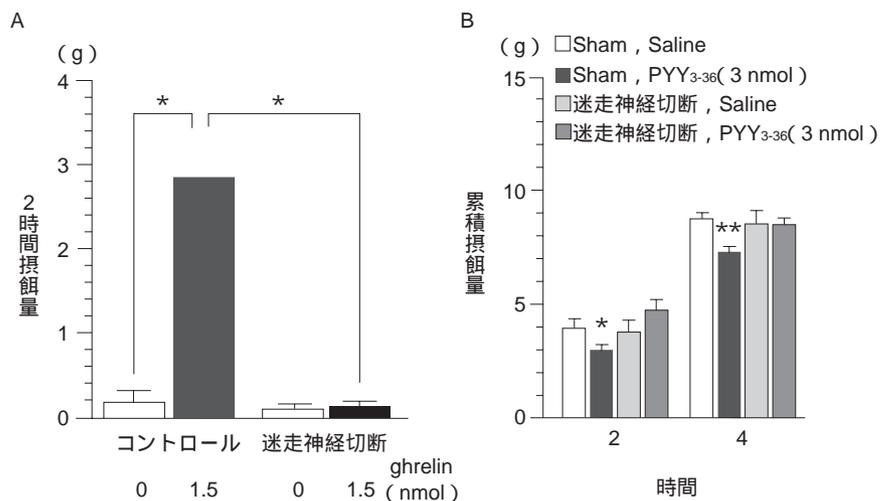


図1 迷走神経遮断ラットにおけるグレリンおよびPYYの摂食調節作用 (A) 迷走神経切断ラットでのグレリン(1.5 nmol) 静脈内投与後の2時間摂餌量. *p < 0.0001(コントロールとの比較) (B) 迷走神経切断ラットでのPYY(3 nmol) 腹腔内投与後の2時間および4時間摂餌量. *p < 0.05, **p < 0.01(Sham + Salineとの比較)

トではグレリン投与による同ニューロンの活性化は見られなかった⁴⁾。

PYYは, NPYペプチドファミリーに属し, NPY Y2受容体を介して摂食抑制に作用する。PYY血中濃度は食後30分以内に速やかに上昇することから, CCK同様に末梢の満腹シグナルの一つと考えられている。暗期直前にPYYをラット腹腔内に投与すると, 2時間および4時間摂食量が低下する。しかし, 迷走神経遮断ラットでは, PYYによる摂食抑制作用は見られなかった(図1)⁵⁾。PYY投与は, 摂食抑制に作用する視床下部弓状核のPOMC含有ニューロンの一部を活性化するが, 迷走神経遮断ラットでは同ニューロンの活性化は起こらなかった。

電気生理学的検討から, グレリンおよびPYYは, 迷走神経求心線維の電気活動をそれぞれ抑制または促進に変化させる^{4,5)}。さらに, グレリンおよびPYYの受容体は, 迷走神経節の求心性ニューロンで産生され, 神経末端に輸送されていることも明らかにされている^{4,5)}。

3. グレリンとCCKの相互作用

グレリン血中濃度は絶食で上昇し, 摂食により速やかに低下する。一方, CCK血中濃度は, 食後速やかに上昇する。グレリンとCCKは相反する生理作用を有する消化管ペプチドであるが, いずれも迷走神経求心路を介して, 空腹あるいは満腹情報を中枢に伝達する。摂食調節機構におけるグレリンとCCKの相互作用を検討したところ, CCKを静脈内投与した30分後にグレリンを投与しても, グレリンの摂食亢進作用は起こらず, 逆にグレリンを前投与するとCCKの摂食抑制作用は起こらなかった(図2)⁶⁾。迷走神経求心線維の電気生理学的検討においても, 一旦いずれかのペプチドで神経電気活動の変化が起これば, 引き続き投与したペプチドの効果は見られなかった。さらにグレリン受容体を発現している迷走神経求心性ニューロンの約70%が, CCK-A受容体を発現していることも免疫組織化学的検討から明らかになった。

おわりに

グレリン, CCKおよびPYYは迷走神経求心線維に存在する受容体に結合し, 求心線維の電気活動を変化させることにより, 空腹あるいは満腹情報を中枢に伝達する。それぞれのペプチドの情報伝達は, 食前後の各血中濃度の推移あるいは受容体間の相互作用により, 巧みに制御されているものと考えられる。

迷走神経は末梢ホルモンの中核への情報伝達経路として極めて重要であり, 迷走神経からの情報を中枢で伝達するトランスミッターあるいは制御因子の同定は, 肥満や摂食障害の病因を解明する上で意義深い。

文献

- 1) Schwartz GJ, Moran TH: CCK elicits and modulates vagal afferent activity arising from gastric and duodenal sites. *Ann N Y Acad Sci* 1994, 713: 121-128.
- 2) Kojima M, Hosoda H, Date Y, et al.: Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999, 402: 656-660.
- 3) Nakazato M, Murakami N, Date Y, et al.: A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 2001, 409: 194-198.
- 4) Date Y, Murakami N, Toshinai K, et al.: The role of the gastric afferent vagal nerve in ghrelin-induced feeding and growth hormone secretion in rats. *Gastroenterology* 2002, 123: 1120-1128.
- 5) Koda S, Date Y, Murakami N, et al.: The role of the vagal nerve in peripheral PYY₃₋₃₆-induced feeding reduction in rats. *Endocrinology* 2005, 146: 2369-2375.
- 6) Date Y, Toshinai K, Koda S, et al.: Peripheral interaction of ghrelin with cholecystokinin on feeding regulation. *Endocrinology* 2005, 146: 3518-3525.

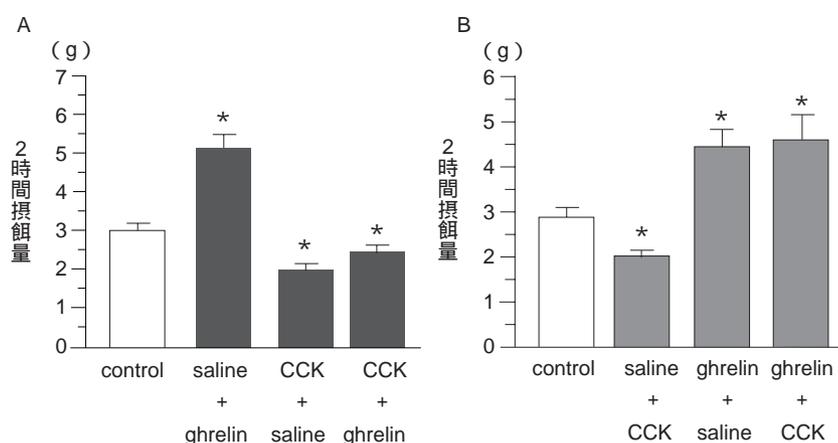


図2 摂食調節におけるグレリンとCCKの相互作用

- (A) CCK (1nmol)を静脈内前投与した8時間絶食ラットに, グレリン(1.5nmol)を投与してもグレリンによる摂食亢進作用は見られない。* $p < 0.001$ (コントロールとの比較)
- (B) グレリン(1.5nmol)を静脈内前投与した8時間絶食ラットに, CCK(1nmol)を投与してもCCKによる摂食抑制作用は見られない。* $p < 0.001$ (コントロールとの比較)

トピックス

ラット後肢骨格筋灌流法におけるAMPK活性化薬の脂質代謝に対する作用

万有製薬(株)つくば研究所

広瀬 博康, 西端 俊秀, 徳島ゆきな, 白倉 尚, 鈴木 順

はじめに

骨格筋における脂質代謝カスケードにおいて, AMP-activated protein kinase(AMPK)はその活性化により脂肪酸の取込と消費(酸化)の亢進を担っている. 現在, 肥満を伴った代謝性疾患において, このAMPKを介した脂質代謝調節機能の関与が注目されているが, 骨格筋レベルでAMPKを介した脂質代謝調節の障害あるいは活性化について検討した報告は少ない.

我々は臓器灌流の一種である*in situ*後肢骨格筋灌流法¹⁾にて, 骨格筋におけるエネルギー代謝の研究を行っている. この*in situ*灌流法は, 種々のトレーサーを利用して脂質代謝だけでなく糖代謝について臓器・組織レベルで観測が可能であり, また, 経口吸収性や薬物代謝に問題がある化合物についても, 灌流液中一定濃度で標的臓器(本実験では骨格筋)へ血管を介して到達させて薬理的解析に用いることができるといった特徴を有する. 今回, 肥満およびインスリン抵抗性を呈するラット病態モデルの骨格筋におけるAMPK活性化薬による脂質代謝の調節に関する検討を行った結果を報告する.

方法

雄性SD系ラットには5週齢より9-10週間, 高カロリー餌(D-12451, 4.7 kcal/g, 脂肪含有率24wt/wt%, 蔗糖含有率20wt/wt%, Research Diet社)を自由摂取させた高カロリー餌負荷SDラット(DIO-SD)群と正常餌(CE-2, 3.4kcal/g, 脂肪含有率4.6wt/wt%, 日本クレア)で飼育した正常餌負荷SDラット(Lean-SD)群を作製した. 雄性SD系およびZucker fatty系ラット(ZF)(13~16週齢)をペントバルビタールにより麻酔し, 右大腿動脈および大腿静脈にカテーテルを挿入した. 右大腿動脈より灌流液を定速注入(5 ml/min)し, 大腿静脈より回収する*in situ*後肢骨格筋灌流¹⁾を行った. 灌流液中カーボン(¹⁴C)標識したパルミチン酸を用

いて酸化量を測定し, 脂肪酸酸化の指標とした. 灌流液中コールドのパルミチン酸およびグルコース濃度は, 肥満症での血中濃度を模した条件として各々1mMおよび10mMとして, その取込量を測定した. インスリン濃度は0.2mU/mlとした. AMPK活性化薬として5-aminoimidazole-4-carboxamide-1-β-D-ribofuranoside(AICAR)を2mMの濃度で処置した.

結果

本研究に用いた動物の体重および血漿中パラメーターを表に示す. DIO-SD群およびZF群では, Lean-SDラット群に比較し体重および血漿中インスリンおよび遊離脂肪酸(FFA)値が有意に高かった. とくにZFでは, 血漿中グルコースおよび中性脂肪(TG)も高値であった.

AICARはLean-SDにおいて顕著な脂肪酸取込亢進作用を示した. DIO-SDにおいて, AICARによる脂肪酸取込亢進作用は有意ではあるが, Lean-SDに比して低値を示し, ZFにおいては, その亢進作用は認められなかった(図1). 一方, 糖取込に対して, AICARは本試験で用いた全ての群において少なくとも低下作用を示さず, わずかに増加傾向を示した(図2). 脂肪酸酸化に対して, AICARはLean-

表 *in situ*灌流試験に用いたラットの体重および各種血漿パラメーター

Strain	Body weight (g)	Insulin (ng/ml)	Glucose (mg/dl)	FFA (mEq/l)	TG (mg/dl)
Lean-SD	550 ± 11	4.6 ± 0.3	149 ± 4	0.57 ± 0.04	139 ± 15
DIO-SD	634 ± 16***	5.9 ± 0.3**	159 ± 4	0.83 ± 0.09*	183 ± 21
ZF	580 ± 5*	21.0 ± 2.8***	369 ± 36***	1.24 ± 0.15***	1,113 ± 275***

Plasma samples were obtained under pentobarbital anesthesia before *in situ* assay. Regular diet-fed SD rat(Lean-SD), high calorie diet-fed SD rat(DIO-SD), and Zucker fatty rat(ZF)

Data are means ± SE for 9-19 animals in each group.

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ vs Lean-SD

SDにおいて有意な亢進作用を示したが, DIO-SDではわずかな増加傾向であり, ZFにおいては, 脂肪酸酸化亢進作用は認められなかった(図3).

考 察

我々は, 正常ラットの後肢骨格筋灌流系において, AMPK活性化薬は糖取込を低下させずに脂肪酸取込および

酸化に対して亢進作用を示すことを見出した. 骨格筋のAMPKが活性化すると, アセチルCoAカルボキシラーゼをリン酸化して活性を抑制する. その結果, マロニルCoAが減少してカルニ

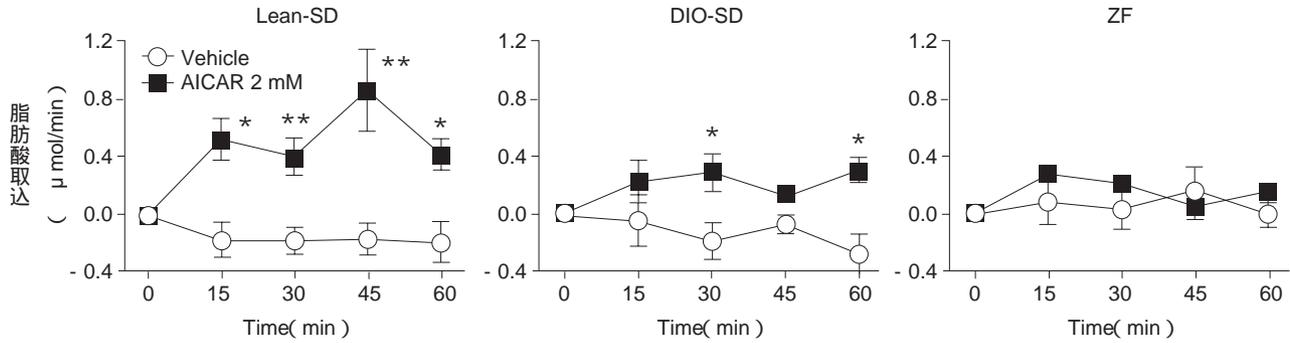


図1 正常餌負荷SDラット(Lean-SD), 高カロリー餌負荷SDラット(DIO-SD), およびZucker fattyラット(ZF)を用いた*in situ*後肢骨格筋灌流におけるAMPK活性化薬の脂肪酸取込に対する作用

Data are means \pm SE. ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ vs vehicle-treated group.

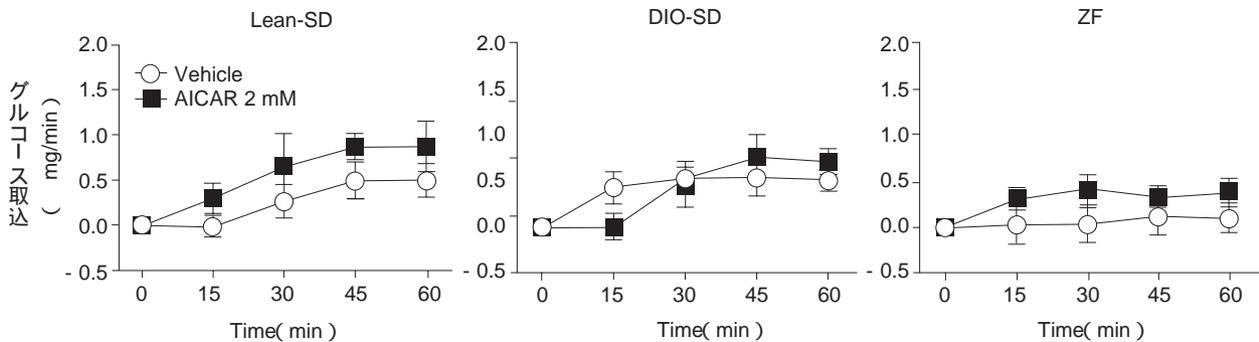


図2 正常餌負荷SDラット(Lean-SD), 高カロリー餌負荷SDラット(DIO-SD), およびZucker fattyラット(ZF)を用いた*in situ*後肢骨格筋灌流におけるAMPK活性化薬のグルコース取込に対する作用

Data are means \pm SE.

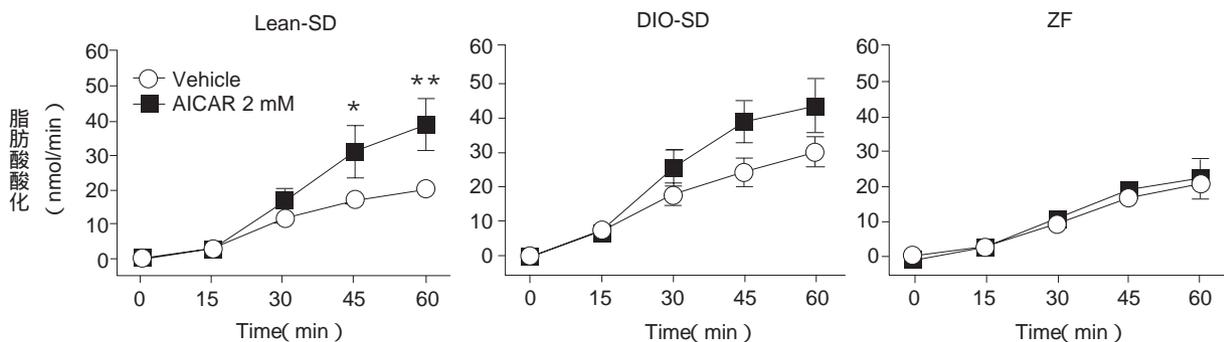


図3 正常餌負荷SDラット(Lean-SD), 高カロリー餌負荷SDラット(DIO-SD), およびZucker fattyラット(ZF)を用いた*in situ*後肢骨格筋灌流におけるAMPK活性化薬の脂肪酸酸化に対する作用

Data are means \pm SE. ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ vs vehicle-treated group.

チンバルミトイルトランスフェラーゼ-1への抑制が解除され、長鎖脂肪酸のミトコンドリアへの輸送が亢進する²⁾。また、骨格筋AMPKの活性化はGLUT4を介した糖取込を増加することも報告されている²⁾。肥満症を模した高脂肪酸(1mM)および高グルコース(10mM)とした本実験条件下では、正常ラットにおいてAMPK活性化は糖よりむしろ脂肪酸取込を亢進させることが観察された。

次に、我々はインスリン抵抗性を示す食餌性(DIO-SD)および遺伝性(ZF)肥満ラットにおいてAICARの脂肪酸取込および酸化亢進作用への効果を検討したところ、両作用ともに著明な減弱が引き起こされていることを見出した。また、その程度はインスリ

ン抵抗性が著しく進展したZFでより顕著であった。糖尿病ラットの骨格筋においてミトコンドリア機能の障害や、AMPK活性の低下が報告されている^{3, 4)}。したがって、肥満に関連したインスリン抵抗性が惹起された病態において、骨格筋における脂肪酸酸化能が低下し、また、AMPK活性化を介した一連の脂質代謝に関する即時性調節も直接に障害を受けていることが示唆された。

以上、本試験に用いた*in situ*灌流法は、骨格筋におけるインスリン抵抗性および肥満に関連した複雑な脂質代謝障害の解明において有用な研究手段であり、メタボリックシンドロームに関する病態生理の解明や新規薬物療法の探索の一助となると考えられる。

文 献

- 1) Ruderman NB, Houghton CR, Hems R: Evaluation of the isolated perfused rat hindquarter for the study of muscle metabolism. *Biochem J* 1971, 124: 639-651.
- 2) Winder WW: Energy-sensing and signaling by AMP-activated protein kinase in skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2001, 91: 1017-1028.
- 3) Lowell BB, Shulman GI: Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science* 2005, 307: 384-387.
- 4) Yu X, McCorkle S, Wang M, et al.: Leptinomimetic effects of the AMP kinase activator AICAR in leptin-resistant rats: prevention of diabetes and ectopic lipid deposition. *Diabetologia* 2004, 47: 2012-2021.