

トピックス

脳由来神経栄養因子BDNFによる視床下部室傍核を介した摂食調節

鳥谷真佐子, 中田 正範, 矢田 俊彦

自治医科大学医学部生理学講座統合生理学部門

背景・目的

摂食・エネルギーバランスは、グルコースや脂肪酸などの栄養、脂肪から産生されるレプチンや胃から分泌されるグレリンなどのホルモンなど、さまざまな摂食調節因子の相互作用により保たれている。近年、神経細胞の生存、分化、シナプス可塑性に関わることで知られる神経栄養因子であるBrain-derived neurotrophic factor (BDNF)も、摂食抑制・エネルギー代謝亢進作用を持つことが明らかになってきた。BDNF欠失ヘテロマウスは肥満を呈することが知られ¹⁾、ヒトでは、BDNF遺伝子の変異を持つ患者は、ハプロ不全により小児期発症の肥満を呈するとの報告がある²⁾。また、Hanらの調査によると、the Wilms' tumor, aniridia, genitourinary anomalies, and mental retardation (WAGR)症候群の患者のうち、変異のないBDNF遺伝子を持つ患者は20%程度が肥満であり、アメリカの一般人の肥満比率と同程度であったのに対し、BDNF遺伝子に欠損のある患者は、100%が肥満であることがわかった。こうしたことから、肥満に関するBDNFの重要性が提起されている³⁾。

BDNFの発現は、摂食やエネルギー代謝を調節している視床下部の室傍核、腹内側核、背内側核、外側野で多く見られ、BDNFの発現は絶食時に低下することから、摂食により調節されると考えられる⁴⁾。また、弓状核のproopiomelanocortin (POMC)ニューロンから放出される代表的な摂食抑制ペプチド、 α -melanocyte-stimulating hormone (α -MSH)、およびそのレセプターであるmelanocortin-4 receptor (MC4R)は、BDNFの上流で作用すると考えられている⁴⁾。しかし、どの神経核でBDNFが作用し、BDNFの下流でどのようなメカニズムが働いて、摂食が抑制されるのかはわかっていない。

本研究において、われわれは、BDNFの作用部位の特定と、BDNFの受容体TrkBの摂食抑制への関与を調べた。

方法

生後12週の雄ラットの室傍核に、BDNFを局所投与し(1.5 μ g/0.5 μ l)、摂食量を測定した。コントロールには、BDNF溶液と等量の人口脳脊髄液 (artificial cerebro-spinal fluid ; aCSF) を用いた。

BDNFの作用部位を確認するため、以下の方法により、BDNFの受容体の一つとして知られるTrkBの発現低下を試みた。pol III系のプロモーターの下流にヘアピン型RNAを発現させるためのTrkB DNA配列 (5'-GAATCCAAGTACATCTGTA-3', 1640 to 1658)をpBAsi-mU6 vector (Takara)に挿入し、siRNA発現プラスミドを作製した。

TrkB siRNAがTrkB発現を減少させ、スクランブルsiRNAがTrkB発現に影響を及ぼさないことは、PC12細胞にて事前に確認を行った。陽イオン性の水溶性ポリマーである直鎖状polyethylenimine (PEI)をベースにした*in vivo*トランスフェクション試薬に混合し、室傍核に1 μ g/0.5 μ l注入した。その後、摂食量を測定した。ネガティブコントロールとして、TrkB siRNAと同じ塩基比率で、既知全遺伝子に対する遺伝子抑制能が低いsiRNA配列であるスクランブルRNAを用いた。室傍核のTrkB発現が減少しているか確かめるため、脳切片を作成し室傍核を切り出した試料を用い、ウェスタンブロットリング法によりTrkBタンパク質を検出した。コントロールとして、アクチンタンパク質を検出した。

結果

室傍核へのBDNFの局所投与を行い、室傍核がBDNFの作用部位であるかどうかを確かめる実験を行った。室傍核にBDNFを投与した群は、コントロールのaCSFを投与した群と比較すると、2時間後、4時間後では違いが見られなかったが、12時間後および24時間後に有意に摂食量が減少

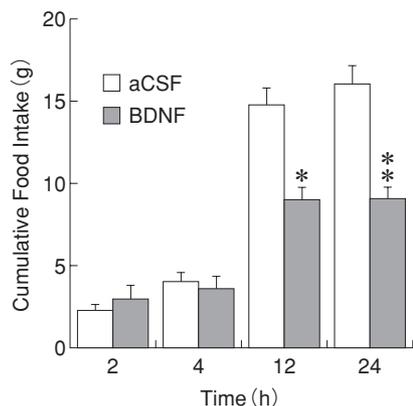


図1 室傍核へのBDNF投与は摂食を抑制する

BDNF, コントロールとして人工脳脊髄液 (artificial cerebro-spinal fluid; aCSF) を室傍核へ局所投与し, 摂食量を測定した. 投与後4時間まではコントロール, BDNF投与群に差がなかったが, 投与後12時間, 24時間では, BDNF投与群の摂食量が有意に低下した.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

した(図1).

次に, 室傍核に発現するBDNFの受容体TrkBが摂食に関与しているか調べるため, 室傍核におけるTrkBのノックダウンを試みた. TrkB siRNAを室傍核に注入し, 24時間後に室傍核を切り出し, ウェスタンブロッティング法によりTrkBタンパク質を検出した. コントロールのアクチンタンパク質発現は, スクランブルsiRNA発現プラスミド投与群とTrkB siRNA発現プラスミド投与群で変化がなかったが, TrkB siRNA発現プラスミド投与群のTrkBタンパク質の発現が減少していた(図2A). さらに, 室傍核におけるTrkBの摂食調節への関与を調べるため, siRNA発現プラスミドを投与した24~48時間後に摂食量を測定した. スクランブルsiRNA発現プラスミド投与群と比較し, TrkB siRNA発現プラスミド投与群の摂食量は, 約1.7倍に増加していた(図2B).

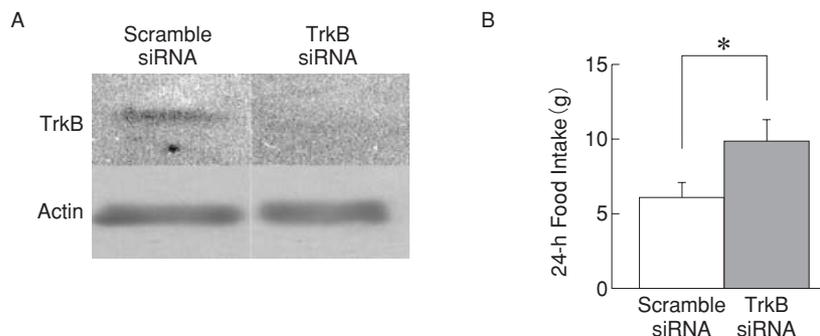


図2 室傍核におけるTrkB発現の減少は食欲の増加を引き起こす

A: 室傍核にTrkB siRNA, コントロールのスクランブルsiRNA発現プラスミドを導入した. 24時間後に室傍核を切り出し, ウェスタンブロッティング法により, TrkBタンパク質とコントロールのアクチンタンパク質を検出した. スクランブルsiRNA導入群と比較し, TrkB siRNA導入群のTrkBタンパク質は減少していた.

B: siRNA発現プラスミド導入後24~48時間後の摂食量を測定した. スクランブルsiRNA導入群と比較し, TrkB siRNA導入群の摂食量は約1.7倍に増加した.

各群 $n=5$, * $p < 0.05$

考察・結論

1. BDNFの作用部位

BDNFの局所投与実験により, BDNFの摂食抑制作用の作用部位の一つが室傍核であることが示唆された. 室傍核にはBDNF受容体の一つであるTrkBが多く発現している⁵⁾. このTrkBの発現を抑制すると, 摂食が増加したことから, おそらくBDNFは室傍核のTrkBを介して, 摂食を抑制するものと思われる.

BDNF遺伝子配列にloxP配列を挿入したfloxマウスの腹内側核または背内側核に, Creレコンビナーゼを発現するアデノウイルスを感染させ, 部位特異的にBDNFの発現を抑制したところ, 過食を呈したという報告がある⁶⁾. BDNFの発現は, 室傍核, 腹内側核, 背内側核で見られ⁴⁾, 腹内側核, 背内側核から室傍核へは, 繊維投射があることが確認されている^{7,8)}. したがって, 室傍核のTrkBに作用するBDNFは, 腹内側核や背内側核から投射する神経終末から放出されている可能性も考えられるが, 室傍核内で分泌され局所的

に作用している可能性も考えられる(図3). 今後, 室傍核のBDNFがどこから供給されているのかを明らかにする必要がある. 一方, 室傍核, 腹内側核, 背内側核はそれぞれが摂食調節に関与することが知られており⁹⁾, BDNF, TrkBを発現するこれらの核が, 協調的・統合的に, 摂食抑制に関与しているのかもしれない.

また, BDNFは摂食調節以外に, エネルギー代謝調節にも関与していることが知られている. BDNFを室傍核へ投与すると, 代謝が促進するとの報告があるが¹⁰⁾, おそらく視床下部からの信号が交感神経系を介して, 脂肪組織や筋肉における代謝を亢進するものと思われる.

2. BDNFの下流で働く

摂食抑制機構

BDNFの脳室内投与により, 室傍核のコルチコトロピン放出ホルモン (Corticotropin-releasing hormone: CRH) の発現が増加するとの報告がある^{11,12)}. CRHは視床下部から分泌されるペプチドホルモンの一つで, 下垂体からの副腎皮質刺激ホルモン

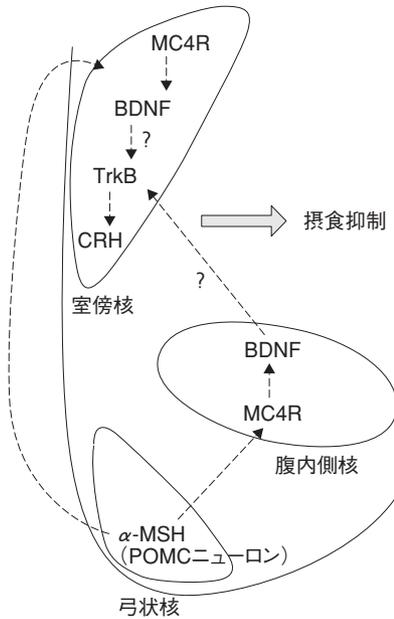


図3 摂食抑制中枢 視床下部におけるBDNFの作用メカニズム

弓状核のPOMCニューロンから、 α -MSHが放出され、受容体であるMC4Rに作用する。MC4RはBDNFの発現を増加させる⁴⁾。BDNFは受容体TrkBに作用し、CRHを介して摂食抑制を行うと考えられる。BDNFは室傍核や腹内側核に発現しており、室傍核に作用するBDNFの由来は明らかでない。

(adrenocorticotrophic hormone : ACTH)の分泌を促進することで知られる一方、摂食を抑制することでも知られている¹³⁾。われわれは、CRHの阻害剤である α -helice CRHが、BDNFの摂食抑制効果を打ち消す結果を得ており(投稿中)、BDNFがCRHを介して摂食抑制を行う可能性が示唆される。

本研究は、神経栄養因子BDNFが視床下部の室傍核において、TrkBを介して摂食抑制を行うことを示唆した。また、BDNFがCRHを介して摂食抑制を行うことを示唆するデータから、なぜ神経栄養因子が摂食・エネルギー調節に関わるのかを明らかにする糸口がつかめるかもしれない。BDNFの作用のなかでは、神経細胞のシナプス可塑性調節が特に知られており、近年、視床下部においてもシナプス可塑性が摂食調節に重要な役割を持っているとの説も提唱されていることから¹⁴⁾、BDNFのシナプス可塑性調節と摂食調節との関わりも予想され、今後のさらなる研究が期待される。

文 献

- 1) Kernie SG, Liebl DJ, Parada LF : BDNF regulates eating behavior and locomotor activity in mice. *Embo J* 2000, **19** : 1290-1300.
- 2) Gray J, Yeo GS, Cox JJ, et al. : Hyperphagia, severe obesity, impaired cognitive function, and hyperactivity associated with functional loss of one copy of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene. *Diabetes* 2006, **55** : 3366-3371.
- 3) Han JC, Liu QR, Jones M, et al. : Brain-derived neurotrophic factor and obesity in the WAGR syndrome. *N Engl J Med* 2008, **359** : 918-927.
- 4) Xu B, Goulding EH, Zang k, et al. : Brain-derived neurotrophic factor regulates energy balance downstream of melano-cortin-4 receptor. *Nature neuroscience* 2003, **6** : 736-742.
- 5) Yan Q, Rodeke MJ, Matheson CR, et al. : Immunocytochemical localization of TrkB in the central nervous system of the adult rat. *J Comp Neurol* 1997, **378** : 135-157.
- 6) Unger TJ, Calderon GA, Bradley LC, et al. : Selective deletion of Bdnf in the ventromedial and dorsomedial hypothalamus of adult mice results

in hyperphagic behavior and obesity. *J Neurosci* 2007, **27** : 14265-14274.

- 7) Elmquist JK, Ahima RS, Elias CF, et al. : Leptin activates distinct projections from the dorsomedial and ventromedial hypothalamic nuclei. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998, **95** : 741-746.
- 8) Canteras NS, Simerly RB, Swanson LW : Organization of projections from the ventromedial nucleus of the hypothalamus : a Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin study in the rat. *J Comp Neurol* 1994, **348** : 41-79.
- 9) 鳥谷真佐子, 前島裕子, 栗田英治ほか : 肥満の成因1 ; 摂食調節の中樞神経機構. *治療学* 2007, **41** : 17-22.
- 10) Wang C, Bomberg E, Billington C, et al. : Brain-derived neurotrophic factor in the hypothalamic paraventricular nucleus increases energy expenditure by elevating metabolic rate. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007, **293** : R992-1002.
- 11) Givalois L, Naert G, Rage F, et al. : A single brain-derived neurotrophic factor injection modifies hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis activity in adult male rats. *Mol Cell Neurosci* 2004, **27** : 280-295.
- 12) Naert G, Ixart G, Tapia-Arancibia L, et al. : Continuous i.c.v. infusion of brain-derived neurotrophic factor modifies hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity, locomotor activity and body temperature rhythms in adult male rats. *Neuroscience* 2006, **139** : 779-789.
- 13) Richard D, Huang Q, Timofeeva E : The corticotropin-releasing hormone system in the regulation of energy balance in obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000, **24** Suppl 2 : S36-39.
- 14) Horvath TL : Synaptic plasticity in energy balance regulation. *Obesity (Silver Spring)* 2006, **14** Suppl 5 : 228S-233S.