

過食モデル動物を用いた自発走行運動と 摂食を統合する中枢制御機構の解明

山内 啓太郎

東京大学大学院農学生命科学研究科 准教授

緒 言

成長ホルモン (GH) はタンパク質同化や脂肪分解の促進作用を通じて基礎代謝量の維持を担う。一方、GH 分泌不全症ではしばしば過食が見られることから、GH は摂食抑制作用をもつ可能性が示されている。我々が作出したヒト GH トランスジェニックラット (hGH-Tg) 1) は、乳清酸性タンパク質 (WAP) のプロモーター制御下に hGH 遺伝子を発現するラットで、導入遺伝子のコピー数の少なからず血中 hGH 濃度は低値を示す一方、用いた WAP プロモーターが中枢での遺伝子発現を促すため、脳脊髄液中には高濃度の hGH が産生されている。そのため hGH の負のフィードバックにより内因性のラット GH (rGH) の分泌は著しく抑制されており、結果として hGH と rGH を合わせた血中 GH 濃度は低く保たれている¹⁾。hGH-Tg は骨格筋発達の低下²⁾や内臓脂肪の増加³⁾など、基礎代謝量の低下を示すとともに、野生型ラット (WT) に比べて著しい過食を示す^{4,5)}。

摂食は視床下部で産生される NPY、AgRP、POMC、CART などの中枢性摂食調節因子や、末梢で産生されるグレリン、レプチンといった分子による制御を受ける。これまでの我々の研究により、hGH-Tg は摂食抑制作用をもつレプチンに対する抵抗性を示すこと⁴⁾、さらに、摂食促進作用をもつ末梢血中グレリン濃度や視床下部での NPY 産生が亢進していること⁵⁾が判明しており、これらが過食の要因となっている可能性が考えられる。

ラットを回転カゴ (ランニングホイール) にアクセス可能な条件で飼育すると、夜間に数 km に及ぶ距離を自発走行する。我々は、従来満腹中枢として知られ、摂食制御を司るとされてきた視床下部腹内側核 (VMH) が自発走行運動中枢でもあることを見出している⁶⁾。このことは VMH が自発走行運動と摂食量を統合的に調節し、生体恒常性の維持に極めて重要な中枢として機能している可能性を強く示唆するものである。そこで本研究では、過食を示す hGH-Tg をモデル動物として利用し、

自発走行運動がラットの摂食行動に与える影響について検討することを目的とした。

実験方法

hGH-Tg および WT は我々の研究室にて自家繁殖したものをを用いた。離乳直後である 4 週齢もしくは性成熟後である 10 週齢から自発走行可能なランニングホイール付きケージまたは単飼ケージで飼育した。固形飼料 (ラボ MR スタンダード、日本農産工業) および水は自由に摂取させた。走行距離、体重、摂食量は 1 週間ごとに計測した。一部の実験では hGH-Tg を 8 週齢からランニングホイール付きケージで飼育し、12 週齢でその半数のランニングホイールを不動化して、同様に摂食量と体重の変化を計測した。16 週齢時に脳脊髄液、血液を採取して hGH の濃度を ELISA により測定した。

結 果

自発走行可能な環境下での飼育が摂食量に与える影響について知るために、hGH-Tg および WT を離乳直後である 4 週齢からそれぞれランニングホイール付きケージまたは単飼ケージで飼育した。ランニングホイールにおける一週間あたりの走行量は個体による変動が大きかったが、10 週齢以降、hGH-Tg では WT に比べて走行量が少なく、以後低値を推移した (図 1)。

それぞれの飼育条件による体重への影響を調べたところ、いずれも WT、hGH-Tg とともに単飼ケージで飼育した群に比べてランニングホイール付きケージで飼育した群で有意に減少していた (図 1)。一方、摂食量については、WT では飼育方法の違いによる差は見られなかったが、過食を示す hGH-Tg ではランニングホイール付きケージで飼育した群で有意に減少し、WT と同程度の値が維持された (図 2)。また走行量と異なり、個体間での摂食量のばらつきはほとんどみられなかった。

次に、自発走行運動による過食の改善が、性成熟後に

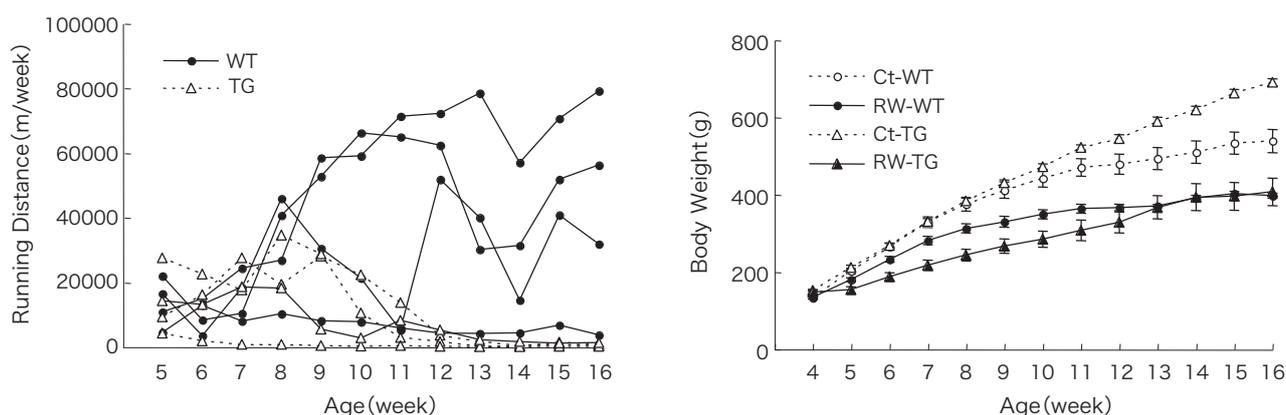


図1 離乳直後（4週齢）からランニングホイール付きケージで飼育した場合の各個体の走行量の推移（左）と体重変化（右）

WT：野生型ラット、TG：hGH-Tg、Ct：単飼ケージでの飼育、RW：ランニングホイール付きケージでの飼育（各群 n=4）

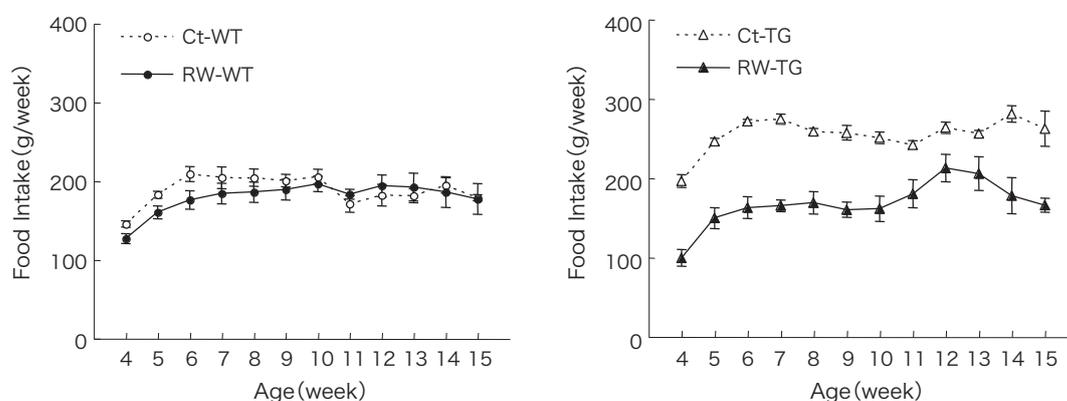


図2 離乳直後（4週齢）からランニングホイール付きケージで飼育した場合の摂食量に対する影響

WT：野生型ラット、TG：hGH-Tg、Ct：単飼ケージでの飼育、RW：ランニングホイール付きケージでの飼育（各群 n=4）

ランニングホイール付きケージでの飼育を開始した場合にも同様にみられるかどうかについて検討を行った。hGH-Tg および WT を 10 週齢からそれぞれランニングホイール付きケージまたは単飼ケージで飼育し、摂食量を一週間おきに測定した。その結果、WT、hGH-Tg とともにランニングホイール付きケージでの飼育開始後には一過的に摂食量が減少するものの、WT では摂食量は再度元の値にまで戻ったのに対し、hGH-Tg では元の値までは戻らず、WT とほぼ同様の摂食量が維持された（図3）。以上の結果から、自発走行可能な環境下での飼育は週齢を問わず、ラットの過食を改善することが明らかとなった。

以上でみられた過食の改善は、自発走行運動によるものではなく、ランニングホイール付きケージという飼育環境によるものである可能性が考えられる。そこで、飼育途中でランニングホイールを不動化し、自発走行運動

が不可能な条件にした場合の hGH-Tg の体重、摂食量に与える影響について調べた。その結果、hGH-Tg の体重、摂食量は不動化後速やかに増加し、単飼ケージで飼育した群とほぼ同様の値となった（図4）。この結果から、hGH-Tg でみられた過食の改善効果はランニングホイール付きケージという飼育環境によるものではなく、自発走行運動によるものであることが判明した。

GH が摂食抑制作用をもつ可能性が示されていること、さらに hGH-Tg では WAP プロモーターにより中枢で hGH 遺伝子が発現しているため、脳脊髄液中の hGH が高濃度であることから、自発走行運動により中枢の hGH 遺伝子発現が変化した可能性が考えられる。そこでランニングホイール付きケージでの飼育やランニングホイールの不動化が血中や脳脊髄液中の hGH 濃度に影響を与えるかどうかについて検討を行ったが、hGH-Tg の血中・脳脊髄液中の hGH 濃度は、飼育環境の違いによって変

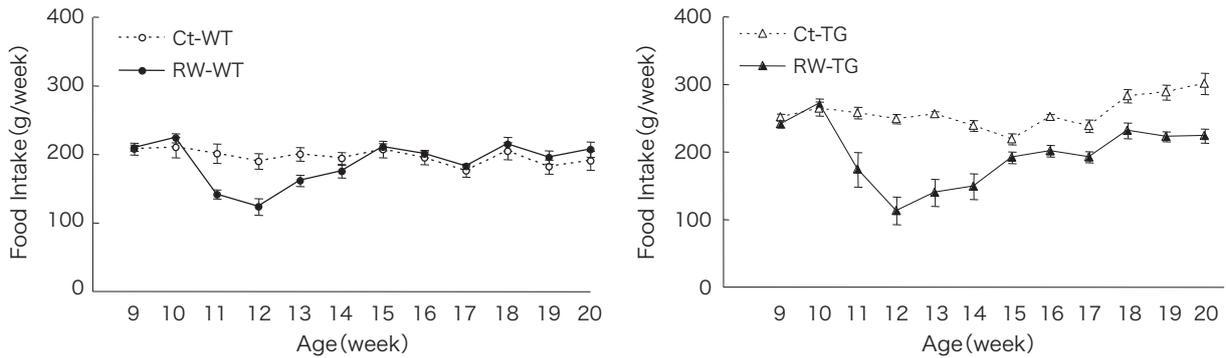


図3 性成熟後（10週齢）からランニングホイール付きケージで飼育した場合の摂食量に対する影響

WT：野生型ラット、TG：hGH-Tg、Ct：単飼ケージでの飼育、RW：ランニングホイール付きケージでの飼育（各群 n=4）

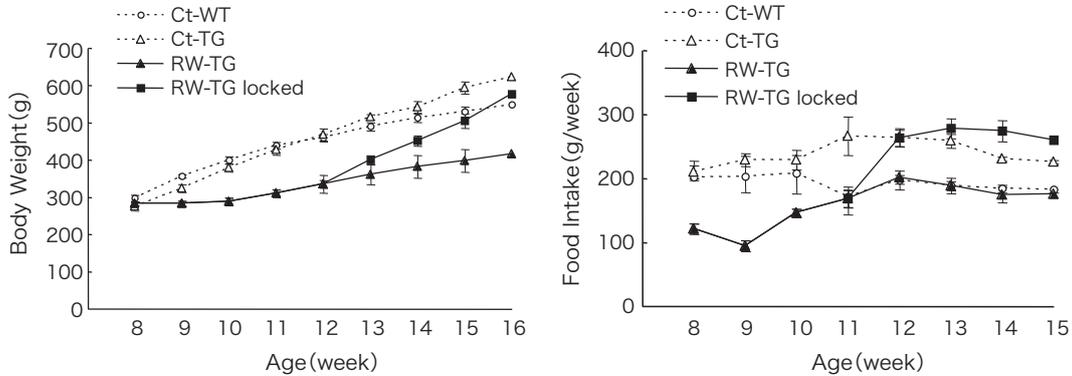


図4 ランニングホイールの不動化が摂食量に与える影響

WT：野生型ラット、TG：hGH-Tg、Ct：単飼ケージでの飼育、RW：ランニングホイール付きケージでの飼育、locked：12週齢時にランニングホイールを不動化（各群 n=4～5）

化が見られなかった（表1）。このことから hGH-Tg でみられた過食の改善は、自発走行運動が WAP プロモーター制御下にある hGH の遺伝子発現に影響を与えた結果によるものではないことが示された。

表1 各飼育条件下における hGH-Tg の脳脊髄液中・血中hGH濃度

	Ct-TG	RW-TG	RW-TG locked
CSF (ng/mL)	1150±205	944±55	1300±194
Serum (ng/mL)	1.92±0.4	3.9±0.4	1.1±0.4

16週齢時の濃度を測定した（n=4～5）

考察

本研究の結果、自発走行運動がエネルギーの過剰な摂取、すなわち過食を改善することが明らかとなった。

ラットの自発走行運動は個体間でのばらつきが大きい

ことが報告されている。今回、WT および hGH-Tg においても個体間の走行量のばらつきが観察され、なおかつ hGH-Tg の走行量は WT に比べて少ないにも関わらず、hGH-Tg での摂食量は一様に減少した。このことは、自発走行運動による過食の改善には走行量の多寡ではなく、自由に走行できる飼育環境そのものが重要であることを示すものである。

今回、ランニングホイール付きケージでの飼育開始直後には、WT、hGH-Tg の両方で摂食量の一過的な減少がみられた。しかし WT では3週間ほどで摂食量が元の値（一週間あたり約 200 g）に戻ったのに対し、hGH-Tg では WT で通常みられる摂食量に戻って以降、その値は維持された。このことはラットにおいて個体維持に必要な摂食量（エネルギー）が潜在的にプログラムされており、それが自発走行運動可能な環境下で飼育することにより顕性化したものと考えられる。つまり自発走行運動には摂食量を正常化する作用があると言える。

そうであるとすれば、今回用いた hGH-Tg のみならず過食を示す他のモデル動物についても同様の効果がみられるかどうかについて検証を行うことは非常に意義のあることであろう。

生命科学の研究に多用されるラットなどの小型実験動物は、ケージ飼育されるのが一般的であり、これらの動物を用いることによる数々の知見は、ケージ飼育という環境下で得られたものが大部分を占める。一方、自然界に生息するこれらの動物は、積極的に餌を求めて夜間に活動すること、ランニングホイールにアクセス可能な環境下で飼育したラットは何ら強制されることなく、「自発的に走行運動を行う」ことを鑑みれば、むしろ自発走行運動が可能な環境での飼育が本来の姿を反映していると考えられる。このことは、自発走行運動が動物の生理機能を正常に維持するうえで極めて重要な意義をもつことを示すものであり、従来ケージ飼育した小型実験動物により得られてきたさまざまな摂食制御機構に新たな知見を付与するだけでなく、さらに広範にわたる自発走行運動の役割が将来明らかになる可能性を秘めている。

それでは、自発走行運動にはどのような意義があると考えられるだろうか。摂食すなわち「食べる」という行為はヒトをはじめとする動物全てが共通して持つ普遍的なものである。自然界に生息する動物はその個体の生命維持と種の保存のために常に餌を探索し続ける。しかし、自然界で得られる食餌は必ずしも必須な栄養素をバランス良く含むとは限らないため、個体の維持に必要な全ての栄養素を十分に採取することは、結果として余分なエネルギーの摂取にも繋がりうる。例えば脂肪はこのような余分なエネルギーを貯蔵し、飢餓に備えるための器官として発達したと考えられ、ヒト、そして最近ではイヌやネコなどの伴侶動物でも過剰な脂肪の蓄積、すなわち肥満が問題視されている。しかし、自然界に生息する動

物では肥満という現象が見られないのは、過剰に摂取したエネルギーを何らかの方法で消費することでこれを回避しているためと推察される。本研究で着目した「自発走行運動」は恐らくこのような過剰なエネルギー消費の一手段として機能しているものであろう。

今後は、視床下部における摂食調節因子の発現やレプチンのシグナル伝達などに注目し、自発走行運動による摂食量正常化の機序を検討する予定である。

要 約

hGH-Tg をランニングホイールにアクセス可能な条件下で飼育することにより、その過食が完全に消失することが明らかとなった。また、その効果はランニングホイール付きケージでの飼育を開始する週齢に依らずみられることがわかった。以上の結果は、自発走行運動が動物の生理機能を正常に維持するうえで極めて重要な意義をもつことを示すものであると考えられた。

謝 辞

本研究の遂行にあたり中心的な役割を果たしてくれた東京大学農学部獣医生理学教室の小松田麦子さんに深く感謝いたします。本研究への助成を賜りました公益財団法人三島海雲記念財団に心より感謝いたします。

文 献

- 1) A. Ikeda, et al, : *Endocr. J.*, 41, 523-529, 1994.
- 2) K. Yamanouchi, et al, : *Exp. Gerontol.*, 39, 1179-1188, 2004.
- 3) A. Ikeda, et al, : *Endocrinology*, 139, 3057-3063, 1998.
- 4) Y. Furuhashi, et al, : *J. Endocrinol.*, 143, 535-541, 2000.
- 5) H. Hozumi, et al, : *J. Vet. Med. Sci.*, 68, 959-965, 2006.
- 6) T. Yokawa, et al, : *Physiol. Behav.*, 46, 713-717, 1989.