

視床下部メラノコルチン系の意義を明らかにするために、POMCに由来する α -melanocyte stimulating hormone (α -MSH) の拮抗薬SHU9119を用いてレプチンの摂食量と体重増加抑制作用に及ぼす効果を検討した。その結果、レプチンの摂食抑制及び交感神経活動亢進作用は、視床下部メラノコルチン系を介することが証明された。

(中尾)

ヒト大脳のESTデータベース中から、あるG蛋白質共役型受容体を見出し、その内因性のリガンドとして、生理活性ペプチド、オレキシン (Orexin) AおよびBを同定した。これらのペプチドは摂食行動の制御に深く関係すると考えられ、中枢性摂食異常症の成因と病態生理における意義を明らかにするため、オレキシン神経系の入力系及び出力系を研究した。

オレキシンAは33アミノ酸残基、オレキシンBは28残基のペプチドで、両者には全体で46% (13/28) の相同性が認められた。さらに、オレキシンには2つの受容体が存在することを明らかにし、それらのcDNA及び遺伝子をクローニングした。OX1受容体は、オレキシンAに対する親和性の方がオレキシンBに対する親和性より100倍程高く、OX2受容体は、オレキシンAとオレキシンBに対する親和性がほぼ同じであった。オレキシンAのOX1、OX2両受容体に対する親和性はほぼ同じで、 K_d 値は数nMであった。

オレキシンとその受容体は中枢神経系に特異的に発現していた。とくにオレキシンは摂食中枢として知られていた視床下部外側部 (LH) とその周辺の特定のニューロンに特異的に発現していた。合成したオレキシンAおよびBをラットに投与すると、4時間で摂食量が6倍程度に増加した。また、ラットを絶食させると、prepro-orexinのmRNAレベルが2.5倍に増加した。組織学的検討により、オレキシン含有神経はニューロペプチドY (NPY)、 α MSH、AgRPなどのニューロペプチドを持った神経終末によってinnervationされていることが示唆された。一方、免疫染色により、オレキシン含有神経を染色すると神経末端は、大脳皮質、視床、辺縁系、脳幹等、広範な領域に投射していた。また、これらの領域にはオレキシン受容体mRNAの発現が認められた。これらの結果から、オレキシン神経系は様々なニューロペプチドによる神経性の入力及び、血糖

値や血中レプチン濃度などの末梢性の情報を最終的に脳の様々な領域へ伝える働きをしていると考えられた。さらに、オレキシン神経系が脳皮質、辺縁系、脳幹など、広範な領域に投射していたことは、摂食行動の中で、特に認知、情動や感情のような側面に深く関与していることを示しており、このことから、ヒトの中枢性摂食異常症へのオレキシンの関与が強く示唆された。(桜井)

2) 中枢性摂食異常症患者の臨床疫学的な実態を把握し、新しい診断基準作成の基礎資料を収集することを目的として、本症の本格的な疫学調査を行った。

全国6県(福岡県、鹿児島県、兵庫県、大分県、新潟県、広島県)の主な摂食異常症治療施設を、摂食障害、及び著明なるい痩を主訴として受診した患者を対象とした。本研究班で作成した調査票を用いて調査を施行した。診断基準はDSM-IVに準拠したが神経性食欲不振症の体重の基準に関してはBMIが17.6未満とした。平成9年9月15日から12月14日までの3ヶ月間調査を行った。なお、鹿児島県においては平成9年9月15日から1年間調査を行った。

調査表の解析が可能であった患者は357人であった。神経性食欲不振症(AN)が178人(49.8%)、神経性過食症(BN)が111人(31.1%)、特定不能の摂食障害は68人(19.0%)を占めていた。男女比は1:38.7、平均年齢は22.8才、平均発症年齢は18.5才で青年期の女性に多かった。しかし30才以上の患者の割合は16.5%であり、1992年の全国調査の結果と比較すると、7倍になっており、罹患患者の年齢層の拡大がみられた。

平均罹病期間は51.7ヶ月と長期にわたっていた。AN患者及びBN患者を合わせ、罹病期間を嘔吐や下剤乱用を行う排出型群と非排出型群で比較した。前者の平均は64.9ヶ月、後者は29.5ヶ月で排出型群の方が非排出型群に比べ有意に罹病期間が長かった($p < 0.001$)。摂食異常症患者の家族背景として、親の過保護、過干渉が35.2%、両親の不和が30.4%、3世代同居が15.1%の割合で認められ、家庭内問題を有する例が多かった。

鹿児島県における1年間の今回の調査結果より、中枢性摂食障害患者は女性総人口10万人あたり16.2人であり、1992年の全国調査時の鹿児島県のデータと比較して3.4倍に増えていた。また、1997年の鹿児島県の1年間のAN初回入院患者は15才から24才女性の人

口10万人あたり12.52人であった。Moller-Madsen S.ら(1992年)によると1989年のデンマークの調査結果では8.97人であった。西欧で中枢性摂食異常症が増加していないことを考慮すると、鹿児島県におけるANの初回入院患者数は西欧の頻度に匹敵することが明らかになった。

また、上記の結果をもとにDSM-IV等の整合性を考慮しつつ、現代我国の実情に即した中枢性摂食異常症の新しい診断基準を作成することができた。(野添)

3) 食行動と密接な関連する消化管機能調節に関与するNPY受容体を明らかにするため、NPYの消化管運動に及ぼす影響を検討するとともに、各受容体アゴニストの効果を検討した。NPYは複数の受容体を介し、摂食行動(Y1受容体, Y5受容体)やそれと密接に関連する消化管運動(Y2受容体)に影響を及ぼす可能性が示された。中枢性摂食異常症においては、胃排泄能遅延、便秘障害などの消化管機能異常が認められ、本症におけるNPYの病態生理学的意義が示唆された。(春日)

神経性食欲不振症(AN)の病因、及び病態生理にCRFの過剰分泌が関与していると考えられ、CRF受容体サブタイプに対する非ペプチド性拮抗薬の開発が進んでいる。これら拮抗薬はANの治療薬として用いられる可能性がある。このため、ANの病態に関与しているCRF受容体サブタイプの解析は重要である。ストレス反応はCRFがCRFタイプ1受容体に作用することにより出現することが示された。ストレス反応はANの主症状であり、ANの治療薬として、CRF受容体タイプ1の選択的拮抗薬が使用されうる可能性が示唆された。(芝崎)

神経性食欲不振症(AN)において増加する免疫サイトカインの摂食、体温調節作用にヒスタミン神経系がいかに関与しているかを明らかにした。(坂田)

本症において血中NPY濃度を測定し、神経性過食症(BN)の食行動異常にNPYが関連している可能性を示した。(葛谷)

4) 神経性食欲不振症(AN)における内分泌的变化、特に視床下部-下垂体-副腎皮質系の変動の分子機構に、核内受容体であるNGFI-B/nur77がPOMC遺伝子の転写調節を介して関与していることを示した。(名和田)

5) 脂肪細胞由来生理活性物質の一つであるアディポネクチンの血中濃度測定系を樹立し、肥満症における病態生理的意義を明らかにするとともに、生理作用を検討した。アディポネクチンは脂肪組織特異的な分泌蛋白であるにもかかわらず、肥満症では血中レベルが著しく低下しており、体脂肪指数と血中濃度の間に負の相関関係を認めた。またin vitroの実験系において、アディポネクチンは血管内皮下に存在する他のコラーゲン分子と結合する作用を持ち、さらにPDGF, HB-EGF等の増殖因子により誘発される過剰な血管平滑筋増殖反応を抑制した。従ってアディポネクチンは動脈硬化に対しては防御的な作用を持つが、肥満症における分泌不全が血管病発症に関与する可能性が考えられた。(松澤)

6) 中枢性摂食異常症の病態生理で重要なエネルギー代謝調節系は摂食調節系とエネルギー消費調節系より成る。新たなエネルギー消費調節に関与する脱共役蛋白質3 (UCP3)を同定した。また、エネルギー代謝状態を情報伝達する核内転写因子であるPeroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) が注目されているが、PPARのアイソフォームの一つであるPPAR γ のアゴニストによるUCP遺伝子発現調節を検討した。PPAR γ のアゴニスト投与後のWistar fatty ratの白色脂肪、及び白色脂肪初代培養系においてUCP3の発現増加を観察し、PPARによるUCP3発現調節を明らかにした。この知見は、UCP3遺伝子発現調節機構の一部を明らかにしたものであり、エネルギー代謝の情報伝達系の分子機構の研究の進展が期待される。(細田)

7) 神経性食欲不振症 (AN) では自律神経機能の異常を認める。一方、末梢血白血球の好中球とリンパ球の割合 (白血球パターン) は自律神経により制御されていることが示されている。AN患者において、白血球パターンと自律神経機能との関連について検討し、制限型ANはリンパ球優位の傾向にあり、自律神経が副交感神経優位に働いていることを示した。(久保)

Prader-Willi症候群患者の成長曲線を完成し、日本人本症候群患者の特徴を明らかにした。(松尾)

以上、平成10年度においては本症の成因及び病態生理に関して、基礎的、臨床的研究を継続するとともに、本症の臨床像を明確にするために、全国的規模での疫学調査を行い、それを基にして本症の診断基準を作製した。

V . 分 担 研 究 報 告

レプチンの摂食調節機構における視床下部メラノコルチン系の意義について

京都大学医学部臨床病態医科学第二内科

なかおかずわ おがおよしひろ ますざきひろあき さとうのりこ
中尾 一和、小川 佳宏、益崎 裕章、佐藤 哲子

《KEY WORDS レプチン、視床下部メラノコルチン系、 α -MSH、
中枢性摂食調節、交感神経、褐色脂肪組織、UCP》

〔目的〕肥満遺伝子産物（レプチン）の摂食とエネルギー代謝調節作用における視床下部メラノコルチン系の意義を明らかにするために、 α -メラノサイト刺激ホルモン(α -MSH)の受容体アイソフォームの一つであるMC4-Rの特異的拮抗薬SHU9119のレプチンの中枢作用に及ぼす効果を検討した。

〔方法〕8週齢の雄性Sprague-Dawleyラットの側脳室内にガイドカニューレを挿入し、5日後夜間にSHU9119(0.01~0.1ug)と人工脳脊髄液(aCSF)又は α -MSH10ugを同時投与し投与終了3時間後の摂食量と体重増加の変化を測定した。また、SHU9119(0.01~0.1ug)とaCSF又はレプチン2ugを同時投与し、投与終了3時間後の摂食量と体重増加の変化を測定した。更に褐色脂肪組織における脱共役蛋白質(UCP-1)遺伝子発現を検討した。

〔結果〕レプチンの側脳室投与により対照群と比較して有意な摂食量と体重の減少が認められ、褐色脂肪組織におけるUCP-1遺伝子発現は亢進した。SHU9119 (0.01~0.1ug)とレプチンの同時投与群では、SHU9119により用量依存性にレプチンの摂食量と体重増加抑制作用が減弱され、0.1ug投与では、いずれも完全に抑制された。又、レプチンによるUCP-1遺伝子発現の亢進も完全に抑制された。SHU0.1ug単独投与で

は、摂食量と体重増加抑制及びUCP-1遺伝子発現の亢進は認められなかった。

[総括] レプチンによる摂食量と体重増加抑制作用及び交感神経活動亢進作用は視床下部メラノコルチン系を介していることが示唆された。

Hypothalamic Melanocortin System Plays a Central Role in Leptin Action

Nakao Kazuwa, Ogawa Yoshihiro, Masuzaki Hiroaki, Satoh Noriko

Kyoto University Graduate School of Medicine, Department of Medicine and Clinical Science

[Purpose] Leptin is an adipocyte-derived blood-borne satiety factor that decreases food intake and increases energy expenditure, thereby leading to a substantial decrease in body weight. To explore the possible roles of hypothalamic melanocortin system in leptin action, we examined the effects of a signal intracerebroventricular (ICV) injection of leptin with or without SHU9119, a potent antagonist of α -melanocyte stimulating hormone, on food intake, body weight, and mitochondrial uncoupling protein-1 (UCP-1) mRNA expression in the brown adipose tissue (BAT) in rats.

[Method] A stainless-steel ICV cannula was implanted in an appropriate position in 8-week-old male Sprague-Dawley rats. The animals were allowed for recovery for 5 days before the experiments. Cumulative food intake and body weight change were measured during 3 h after ICV injection of 2.0 mg leptin or aCSF with or without indicated doses (0.01, 0.03, and 0.1 mg) of SHU9119 at the onset of the dark phase. The BAT was also removed immediately from rats 3

h after the ICV injection of leptin with or without 0.1 mg of SHU9119. Total RNA extraction was carried out and Northern blot analysis was performed with the 32P-labeled rat UCP-1 cDNA probe.

[Result] A single ICV injection of leptin decreased significantly cumulative food intake and body weight gain, and increased UCP-1 mRNA expression in the BAT in rats during 3 h at the onset of the dark phase. Inhibition of food intake and body weight change by leptin was reversed by co-injection of SHU9119 in a dose-dependent manner. Co-injection of SHU9119 also inhibited completely the leptin-induced increase in UCP-1 mRNA expression in the BAT. Treatment with SHU9119 alone did not affect food intake, body weight, and UCP-1 mRNA expression in rats.

[Conclusion] The present study provides evidence that hypothalamic melanocortin system plays a central role in both satiety effect and sympathetic activation of leptin.

[はじめに]

肥満遺伝子産物（レプチン）は、脂肪組織に由来するホルモンであり、視床下部のレプチン受容体を介して強力な摂食抑制作用とエネルギー代謝亢進作用を発現し体重減少をもたらすことにより、肥満を制御していると考えられている。我々は、既に、レプチン受容体の存在する視床下部各神経核にレプチンを直接投与することにより、視床下部弓状核（Arc）において最も強力な摂食抑制効果が認められることを証明し、レプチンの摂食抑制作用が、主にArcを介することを報告してきた。レプチンの投与により、摂食行動の促進、エネルギー代謝の抑制作用を有する神経ペプチドであるニューロペプチドY（NPY）のArcにおける遺伝子発現が減少することから、NPYはレプチン

作用の主なメディエーターであることが示唆されてきた。

一方、Arcに存在するProopiomelanocortin (POMC) に由来する α -メラノサイト刺激ホルモン(α -MSH)はその受容体MC4-Rを介することにより摂食抑制作用を発現することが示されてきた。。KKAyマウスでは、agouti蛋白が視床下部に発現するMC4-Rに拮抗することにより、MC4-Rを介する摂食抑制作用が障害され、肥満、糖尿病を発症すると考えられている。又、最近レプチンの末梢投与によりArcにおけるPOMC遺伝子発現が増加することが報告され、レプチンの作用は、NPY系のみならず、視床下部メラノコルチン系を介する可能性が示唆されている。本研究では、レプチンのエネルギー代謝調節作用におけるメラノコルチン系の意義を明らかにするために、MC4-Rの特異的拮抗薬であるSHU9119を用いてレプチンの中枢作用に及ぼす効果を検討した。

[対照と方法]

1. 投与実験

8週齢の雄性Sprague-Dawleyラットの側脳室内に麻酔下にてガイドカニューレを挿入した。リコンビナントレプチンは既報に基づいて作製し、人工脳脊髄液に溶解した。ガイドカニューレ挿入5日後、夜間に以下の投与実験を施行した。1) SHU9119 (0.01~0.1ug) 投与直後に α -MSH10ugを投与、2) SHU9119(0.01ug~0.1ug)投与直後にレプチン2ugを投与した。実験終了後、[実際は、カニューレにEvans blue 染色液を流し込み(注入し)側脳室に青色がまわっているかみただけで染色はしていない。(染色するとしたらNissle染色)] Evans Blueを用い、側脳室カニューレの位置を確認した。

2. 体重および摂食量の測定

上記の投与実験終了3時間後の摂食量と体重増加の変化を測定した。

3. UCP-1 遺伝子発現の検討

上記の投与実験1) の終了3時間後に、ラットを断頭直後に褐色脂肪組織を採取した。ラットUCP-1cDNAプローブを用いノーザンブロット法にてUCP-1遺伝子発現を検討した。

4. 統計

結果は、平均 \pm S.E.Mで表示し、有意差検定はDuncan's multiple-range testにて施行した。

[結果]

1. α -MSHの側脳室内投与による摂食量及び体重増加抑制作用に及ぼすSHU9119の効果

α -MSH単独投与群では、対照群と比較して用量依存性に摂食量の低下と体重減少が認められ、 α -MSH10ug投与により対照群と比較して約4gの摂食量の低下と約7gの体重減少が認められた(図1)。SHU9119と α -MSH(10ug)の同時投与群では、SHU9119により用量依存性に α -MSHの摂食量と体重増加抑制作用が減弱され、SHU9119 0.1ug投与により、 α -MSHの摂食量と体重増加抑制作用はいずれも完全に抑制された。

2. レプチンの側脳室内投与による摂食量及び体重増加抑制作用に及ぼすSHU9119の効果

レプチン2ug投与群では、対照群と比較して約4gの摂食量の低下と約9gの体重減少が認められた。SHU9119とレプチンの同時投与群では、SHU9119により用量依存性にレプチンの摂食量と体重増加抑制作用が減弱され、SHU9119 0.1ug投与では、いずれも完全に抑制された(図2)。

3. レプチンの側脳室内投与による褐色脂肪組織におけるUCP-1遺伝子発現に及

ばすSHU9119の効果

レプチン2ug投与3時間後では、対照群と比較して、UCP mRNA発現は、約1.6倍に増加した。SHU9119 (0.1ug) とレプチンの同時投与群では、レプチンによるUCP-1遺伝子発現亢進作用は完全に抑制された (図3)。

[考案・結論]

SHU9119はMC4-Rに強力な親和性を有し、 α -MSHの作用に拮抗することが示されている。SHU9119の側脳室内投与によりレプチンの摂食量と体重増加抑制作用及び褐色脂肪組織におけるUCP-1遺伝子発現亢進作用が用量依存性に抑制されたことにより、レプチンはMC4-Rを介して摂食量と体重増加抑制作用及び交感神経活動亢進作用を発現し、体重減少作用をもたらすことが証明された。遺伝性肥満モデルマウスであるKKAyマウスは、agouti蛋白が全身に過剰発現し、視床下部においてMC4-Rに対してagouti蛋白が α -MSHに拮抗し、視床下部メラノコルチン系を遮断することにより、過食と肥満を発症することが明らかにされている。MC4-Rノックアウトマウスにおいても、KKAyマウスときわめて類似した表現型を示すことが報告されている。agouti関連蛋白(AGRP)は、agouti蛋白との構造類似性に基づいて、同定された摂食亢進をもたらす新しい分子であり、視床下部にその発現を認めMC4-Rに対して α -MSHに拮抗することが証明されている。実際に、AGRP過剰発現トランスジェニックマウスもKKAyマウスやMC4-Rノックアウトマウスと同様の肥満を発症し、視床下部メラノコルチン系の摂食行動、体重調節における重要性を示している。本研究結果と合わせて肥満モデル動物は、視床下部メラノコルチン系が遮断されることにより、レプチンのシグナルが伝達されないことが肥満の成因であると考えられている。

従来よりレプチンが視床下部弓状核 (Arc) におけるPOMC遺伝子発現を上昇させることが報告されていたが、本研究により、レプチンがArcのPOMCに由来する α

-MSHの分泌を促進し、MC4-Rを介して、その摂食抑制作用及び交感神経系亢進作用をもたらすことが示された。我々は、*ob/ob*マウスのArcにおいて亢進しているAGRP遺伝子発現がレプチン投与により減少することを認めている。従って、レプチンはArcにおいて α -MSHを上昇させるとともに、AGRPを低下させることにより、視床下部メラノコルチン系を介してシグナル伝達を行っていることが示唆される。

*ob/ob*マウスでは、NPYの遺伝子発現はArcにおいて亢進している。一方、KK^Yマウス及びMC4-RノックアウトマウスではNPYの遺伝子発現は背内側核(DMH)において亢進していることが示されている。また、レプチンは、正常マウスにおいてArc、及びDMHにおいてNPY遺伝子発現を低下させる。メラノコルチンニューロンは、ArcからDMHに投射しており、レプチンは、ArcのNPYを低下させ、POMCを上昇させ、更に、DMHにおいて α -MSHの分泌を促進し、NPYの発現を抑制すると考えられる。これらの結果はレプチンの視床下部における作用点はArcであることを明らかにした我々の従来の成績に合致すると考えられる。

本研究により、レプチンによる摂食量と体重増加抑制作用及び交感神経活動亢進作用において視床下部メラノコルチン系は重要な役割を有することが証明された。このことは、レプチンの視床下部内作用メカニズム及び肥満の病態生理の解明に極めて重要な知見であり、中枢性の肥満改善薬の開発につながるものと考えられる。

[参考文献]

1) Satoh, N., Ogawa, Y., Katsuura, G., Tsuji, T., Masuzaki, H., Hiraoka, J., Okazaki, T., Tamaki, M., Hayase, M., Yoshimasa, Y., Nishi, S., Hosoda, K., and Nakao, K., ;Pathophysiologic significance of the obese gene product, leptin, in ventromedial hypothalamus (VMH)-lesioned rats: Evidence for loss of its satiety effect in VMH-lesioned rats, *Endocrinology*, 138 (1997) 947-954.

- 2) Satoh, N., Ogawa, Y., Katsuura, G., Hayase, M., Tsuji, T., Imagawa, K., Yoshimasa, Y., Nishi, S., Hosoda, K., and Nakao K., The arcuate nucleus as a primary site of satiety effect of leptin in rats, *Neurosci. Lett.*, 224(1997) 149-152.
- 3) Satoh, N., Ogawa, Y., Katsuura, G., Numata, Y., Masuzaki, H., Yoshimasa Y., and Nakao K., Satiety effect and sympathetic activation of leptin are mediated by
- 4) Takaya, K., Ogawa, Y., Hiraoka, J., Hosoda, K., Koletsky, R.J., Yamori, Y. and Nakao, K., Nonsense mutation of leptin receptor in the obese spontaneously hypertensive Koletsky rat, *Nature Genet.*, 14 (1996) 130-131.
- 4) Takaya, K., Ogawa, Y., Isse, N., Okazaki, T., Satoh, N., Masuzaki, H., Mori, K., Tamura, N., Hosoda, K., and Nakao, K., Molecular cloning of rat leptin receptor isoform complementary DNAs: Identification of a missense mutation in Zucker fatty (*fa/fa*) rats, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 225 (1996) 75-83.
- 5) Ogawa, Y., Masuzaki, H., Isse, N., Okazaki, T., Mori, K., Shigemoto, M., Satoh, N., Tamura, N., Hosoda, K., Yoshimasa, Y., Jingami, H., Kawada, T., and Nakao, K., Molecular cloning of rat *obese* complementary DNA and augmented gene expression in genetically obese Zucker fatty (*fa/fa*) rats, *J. Clin. Invest.*, 96 (1995) 1647-1652.
- 6) Masuzaki, H., Ogawa, Y., Isse, N., Satoh, N., Okazaki, T., Shigemoto, M., Mori, K., Tamura, N., Hosoda, K., Yoshimasa, Y., Jingami, H., Kawada, T., and Nakao, K., Human *obese* gene expression: Adipocyte-specific expression and regional differences in the adipose tissue, *Diabetes*, 44 (1995) 855-858.

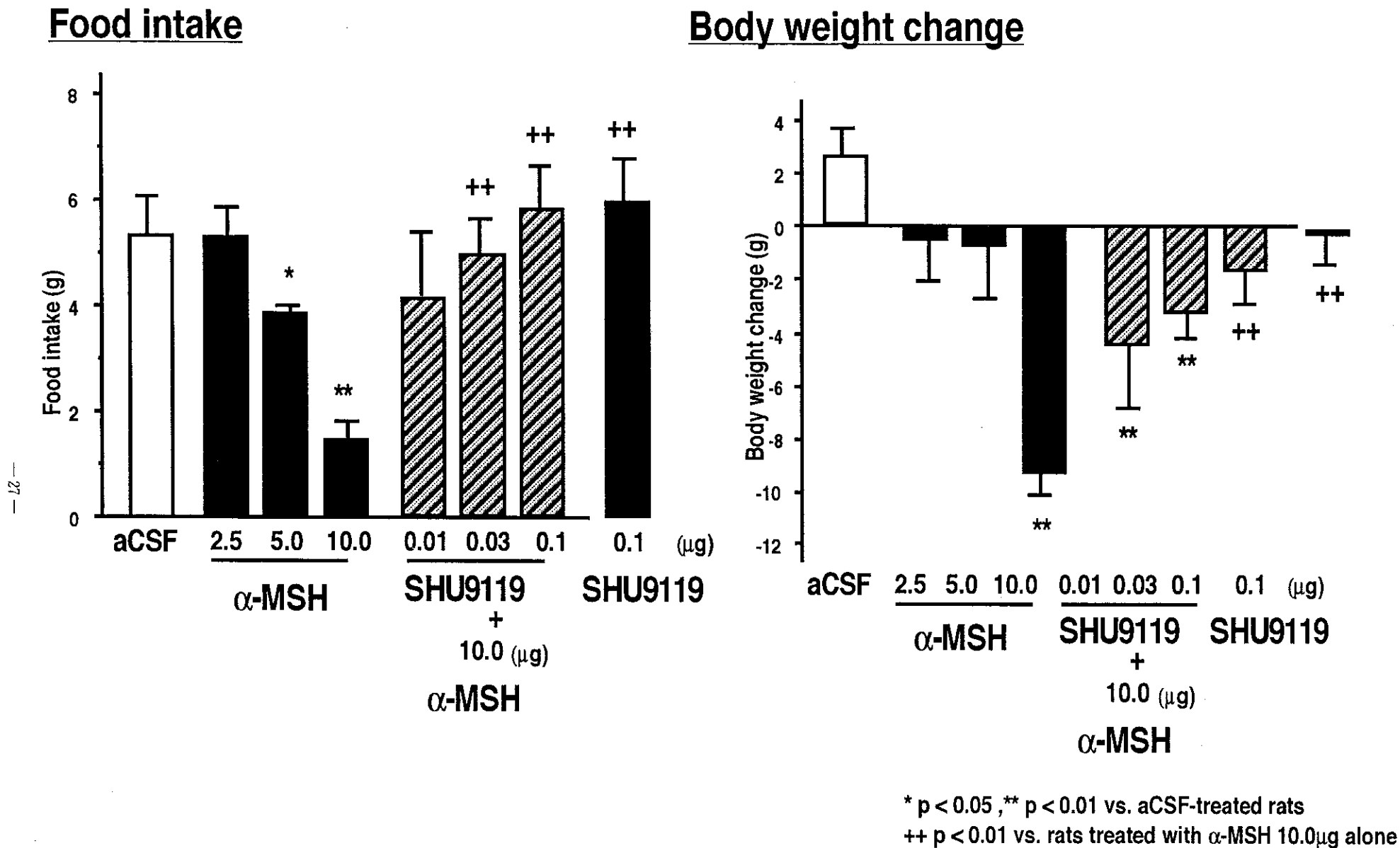
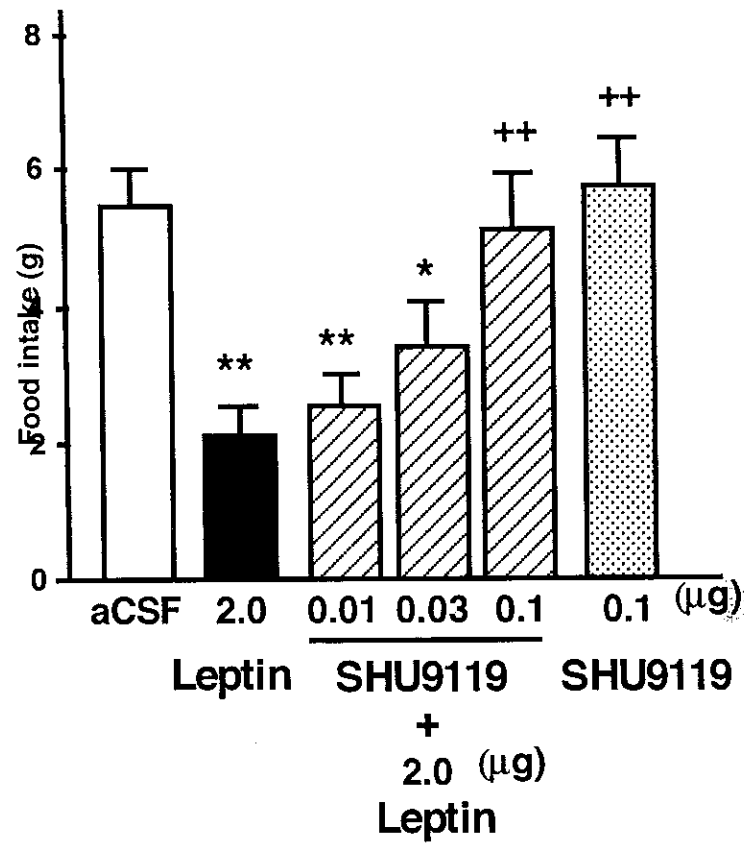
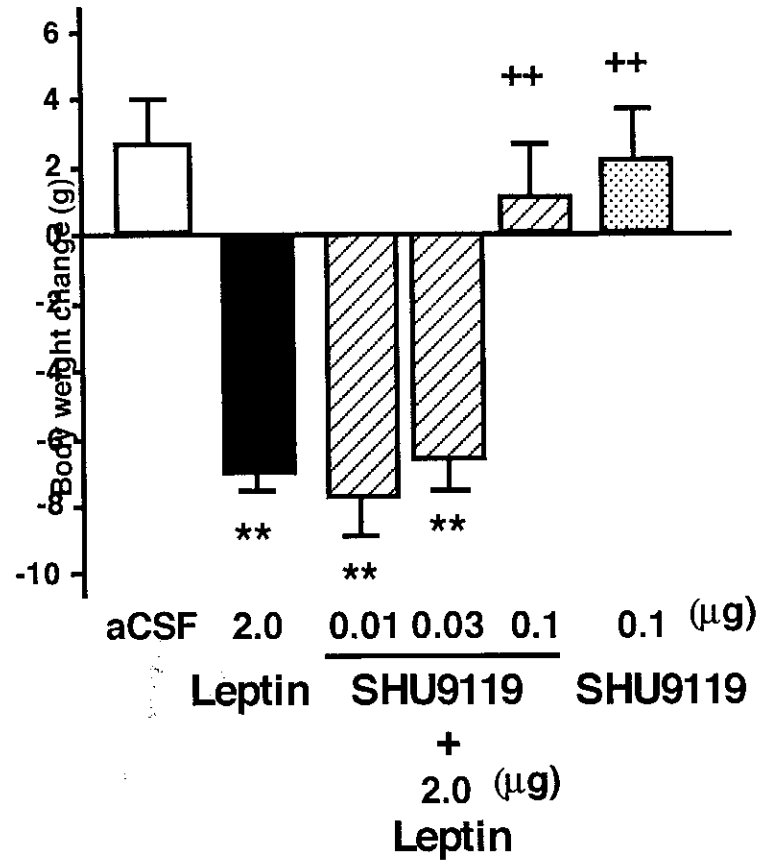


図1 α -MSHの側脳室内投与による摂食量及び体重増加抑制作用に及ぼすSHU9119の効果

Food intake

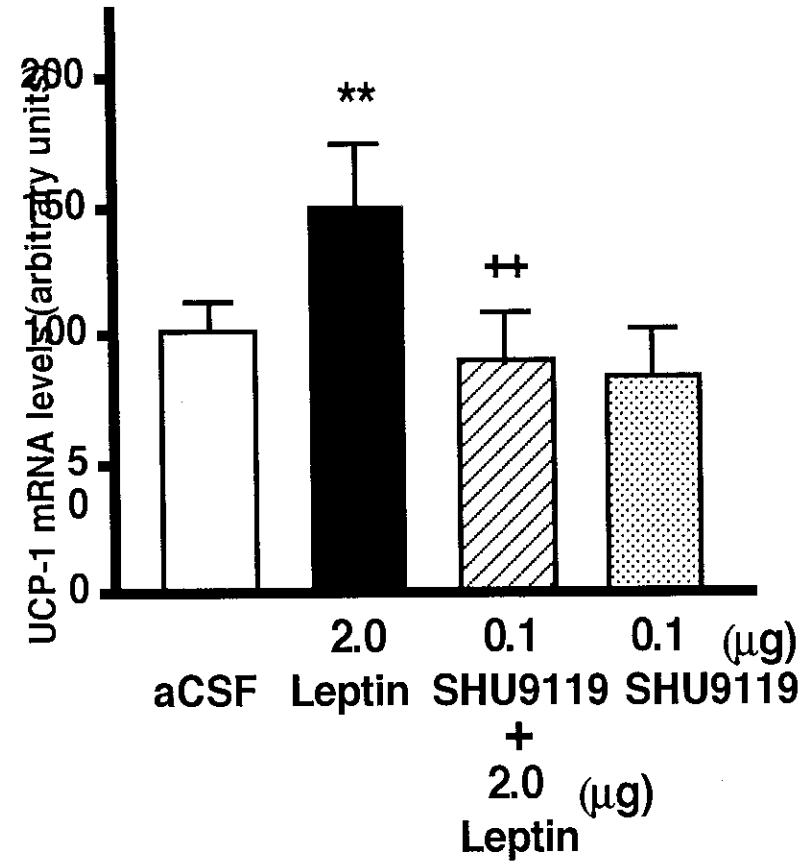
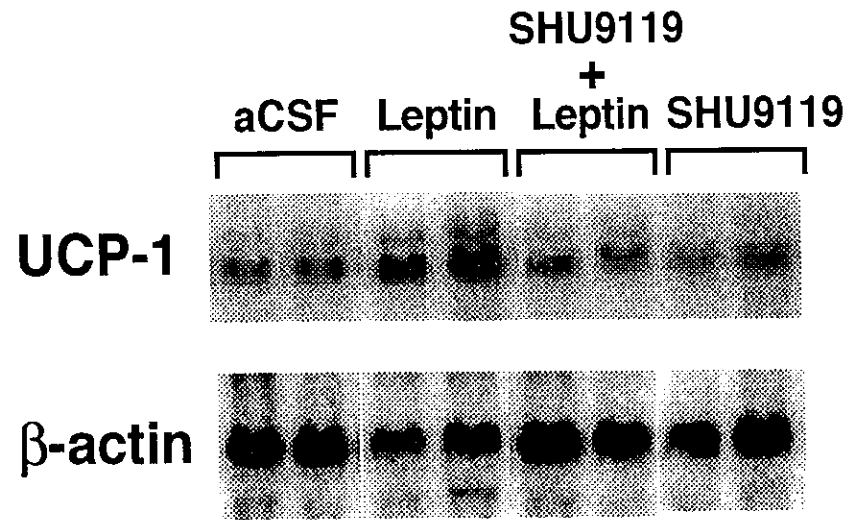


Body weight change



* p < 0.05, ** p < 0.01 vs. aCSF-treated rats
++ p < 0.01 vs. rats treated with α -MSH 10.0 μ g alone

図2 レプチンの側脳室内投与による摂食量及び体重増加抑制作用に及ぼすSHU9119の効果



** p < 0.01 vs. aCSF-treated rats

++ p < 0.01 vs. rats treated with leptin alone

図3 レプチンの側脳室内投与による褐色脂肪組織における脱共役蛋白質(UCP-1)遺伝子発現亢進作用に及ぼすSHU9119の効果

摂食行動を制御する新規神経ペプチド、オレキシンの同定

筑波大学基礎医学系薬理

さくらいたけし
桜井 武

《KEY WORD オレキシン、摂食行動、神経ペプチド》

[研究要旨]

新規神経ペプチド2オレキシンAおよびBを同定した。これらは、同一の前駆体に由来する。また、哺乳類には二種のオレキシンに対する親和性序列の異なる2種のオレキシン受容体が存在することを明らかにした。オレキシンAおよびBをラットの側脳室に投与すると、摂食量が容量依存的に増加した。また、ラットを48時間絶食させると、オレキシンのmRNAレベルが2.5倍に増加した。オレキシンは摂食中枢として知られる視床下部外側野に存在する特定のニューロンにきわめて特異的に発現していることが明らかになった。またオレキシン神経は、脳皮質、視床、辺縁系、脳幹など、広範な領域に投射しており、オレキシンは様々な神経性の入力、血糖値や血中レプチン濃度といった、血液を介する情報を入力として受け、これら視床下部内で統合された摂食行動に関する情報を脳の様々な領域へ伝える働きをしていると考えられる。

Orexins: a novel family of potent orexigenic peptides

Takeshi Sakurai

[Abstract] We identified a novel family of neuropeptides that bind to two closely related GPCRs. We call these peptide ligands orexins, after the Greek word orexis, which means appetite. The mRNA for the precursor of these peptides is abundantly and specifically expressed in the lateral hypothalamus (LHA) and adjacent areas, a region classically implicated in the central regulation of feeding behavior and energy homeostasis. These peptides stimulate food consumption when administered centrally, and their production is influenced by leptin and blood glucose. Double label in situ hybridization showed that orexin and MCH neurons in LHA are segregated populations with very little overlap. Orexin neurons project to the wide variety of the brain regions, within and outside the hypothalamus, including cerebral cortex, limbic system, and brain stem. These pathways may play a critical role in the regulation of feeding behavior.

[研究目的]

われわれは、ESTデータベース中にあるG蛋白質共役型受容体を見出し、その内因性のリガンドとして、生理活性ペプチド2種を同定し、オレキシン(Orexin)AおよびBと名づけた¹⁾。これらのペプチドは摂食行動の制御に深く関係すると考えられ、中枢性摂食異常症においても、その病態生理に関わっている可能性がある。本研究では、摂食異常の病態生理における意義を今後明らかにするための基礎的知見を得ることを目的とし、摂食行動の制御と言う点でオレキシンの作用機構と生理的役割を明確にする

ために薬理的、組織学的な検討を行った。

〔研究方法〕

ESTデータベース中に見い出したあるG蛋白質共役型受容体をHEK293細胞に発現させ、その細胞内カルシウム濃度の上昇をアッセイ系として、ラットの脳抽出液から、内因性のリガンドとして生理活性ペプチド2種を精製し構造を決定した。さらに、cDNAをクローニングし、前駆体の構造を決定した。組織学的検討はラットまたはマウスを用いて常法にしたがって行った。行動薬理的検討はラット側脳室に留置したカニューレから合成したオレキシンを投与して行った。

〔結果〕

オレキシンAは33アミノ酸残基、オレキシンBは28残基のペプチドで、両者には全体で46% (13/28) の相同性が認められ、特にC末側がよく似ていた。両者とも他のどのペプチドとも構造上の類似性はなかった (図1)。

さらに、オレキシンには2つの受容体が存在することを明らかにした。ともにG蛋白質共役受容体で、OX1受容体は、オレキシンAに対する親和性の方がオレキシンBに対する親和性より100倍程度高く、OX2受容体は、オレキシンAとオレキシンBに対する親和性がほぼ同じであった。オレキシンAのOX1、OX2両受容体に対する親和性はほぼ同じで、 K_d 値は数nMであった。両受容体はアミノ酸レベルで64%の相同性をもっていた。ノーザン解析によると、オレキシンとその受容体は全て大脳特異的に発現していた。とくにオレキシンは摂食中枢として知られていた視床下部外側野(LH)とその周辺の特定のニューロンに特異的に発現していた (図2)。合成したオレキシンAおよびBをラットに投与すると、容量依存的に摂食量が増加した。この作用は6時間にわたり観察された。また、ラットを48時間にわたり絶食させると、