

主論文の要旨

**GABA_B receptor signaling in the caudate putamen is
involved in binge-like consumption during a
high fat diet in mice**

〔 背側線条体ニューロンのGABA_B受容体シグナルは
高脂肪食のbinge-like eatingに關与する 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
病態内科学講座 糖尿病・内分泌内科学分野

(指導：有馬 寛 教授)

孫 汝楠

【緒言】

肥満症は世界中で増加している慢性疾患で、2 型糖尿病、脂質異常症など様々な疾患の危険因子であるが、有効な治療法は未だ確立していない。肥満の原因の 1 つに高脂肪食(HFD)に代表される嗜好性の高い食事の過剰摂取がある。嗜好性が高い食事を短時間に大量に摂取し、食欲のコントロールがつかないことを **binge eating** と呼ぶが、これは肥満患者に認められる特徴的な食行動である。

エネルギーバランスは視床下部や脳幹の神経ネットワークを軸としたホメオスタシス調節系と、中脳皮質辺縁系路による報酬系によって制御され、後者では中脳腹側被蓋野から線条体に投射するドーパミンニューロンが中心的な役割を果たす。近年、報酬系のドーパミン作動性ニューロンの機能障害が肥満や食行動異常の発症に寄与することが報告されてきた。齧歯類では HFD を断続的に投与すると過食を生じることが知られており、これを **binge-like eating** と定義し肥満および食行動異常のメカニズムを明らかにする際に過食モデルとして使用される。

我々の研究グループでは、これまでに **gamma-aminobutyric acid B receptor (GABABR)** アゴニストである **Baclofen** が抗肥満作用を示すことを肥満マウス用いた動物実験および肥満患者の臨床試験で報告した。さらに、HFD に対する **binge-like eating** に対して、**Baclofen** が報酬系の一部である線条体ニューロンの **GABABR** を介して過食を抑制することも報告したが、線条体における詳細な分子機序については未だ不明であり本研究において検討を行った。

【方法】

Binge-like eating モデルとして、HFD を最初の 2 日間マウスに与え、続く 5 日間は普通食(CD)を与えた後、実験日に HFD を暗期サイクル開始時から 2 時間与えるプロトコルを施行した。コントロール群は実験日に CD を与えた。雄性の野生型マウス(WT)を用いて、HFD もしくは CD 摂取時の背側線条体(CPu)および腹側線条体(NAc)それぞれにおけるニューロンの活性およびドーパミン受容体シグナルを、**cfos**、**Δ FosB** の mRNA 発現および、**dopamine- and cyclic-AMP-regulated phosphoprotein of molecular weight 32,000 (DARPP32)** のリン酸化を用いて評価し両群間で比較検討した。また、**Cre-loxP** システムを用いて線条体ニューロン特異的 **GABABR** 欠損マウス(KO)を作成し、HFD の摂餌量および HFD 摂取時の CPu および NAc におけるニューロンの活性およびドーパミン受容体シグナルを評価し、WT と KO マウスで比較検討した。さらに、WT マウスに **GABABR** アゴニストである **Baclofen** を **3 μg/g body weight** 腹腔内投与し、HFD の摂餌量および HFD 摂取時の CPu および NAc におけるニューロンの活性およびドーパミン受容体シグナルを **vehicle** 投与群と比較検討した。次に、WT と KO マウスに同様の実験を行い、WT と KO マウス間で比較検討を行った。

【結果】

WT マウスは **binge-like eating** モデル下で、Cpu における摂餌後 30 分の **cfos** の mRNA

発現および DARPP32 のリン酸化、120 分の *cfos*、 Δ FosB の mRNA 発現が 0 分値と比較して有意に上昇した (Fig 1 A-C)。またコントロール群においても摂餌後 30 分の *cfos* mRNA 発現の上昇を認めたものの、binge-like eating モデルにおける摂餌後 30 分の *cfos* mRNA 発現と比較すると有意な低値を示した (Fig 1 A)。また NAc における摂餌後 30 分の *cfos*、 Δ FosB の mRNA 発現および DARPP32 のリン酸化、120 分の *cfos*、 Δ FosB の mRNA 発現は 0 分値と比較して有意な上昇を認めたが、コントロール群では有意差を認めなかった (Fig 1 E-H)。

WT と KO マウスを比較したところ、binge-like eating モデル下において、摂餌量は WT マウスと比較して KO マウスで有意に増大した (データ未掲載)。摂餌開始後 30 分で CPu における *cfos*、 Δ FosB の mRNA 発現および DARPP32 のリン酸化は WT マウスと比較して KO マウスで有意な増加を認めた (Fig 2 A-C)。この時、CPu の dopamine receptor d1 (*Drd1*) 発現細胞における *cfos* 陽性細胞は WT マウスと比較して KO マウスで有意な増加を認めた (Fig 3 A,B)。一方、NAc では、*cfos*、 Δ FosB の mRNA 発現、DARPP32 のリン酸化および *Drd1* 発現細胞における *cfos* 陽性細胞はいずれも両群間で有意差を認めなかった (Fig 2 D-F; Fig 3 C,D)。

Binge-like eating モデル下において WT マウスに Baclofen を腹腔内投与すると、HFD 摂餌量は有意に減少した (データ未掲載)。また CPu における *cfos*、 Δ FosB の mRNA 発現および DARPP32 のリン酸化は vehicle 投与群と比較して有意に減少した (Fig 4 A-C)。一方、NAc では *cfos*、 Δ FosB の mRNA 発現および DARPP32 のリン酸化は両群間で有意差を認めなかった (Fig 4 D-F)。また、WT と KO マウスを比較したところ、WT マウスで認められた Baclofen 投与による摂餌量の低下は KO マウスでは認められず (データ未掲載)、摂餌開始後 30 分の CPu における *cfos*、 Δ FosB の mRNA 発現および DARPP32 のリン酸化の減少は、KO マウスで認められなかった (Fig 5 A-C)。この時、CPu の *Drd1* 発現細胞における *cfos* 陽性細胞数は Baclofen 投与により WT マウスで減少したが、KO マウスでは認めなかった (Fig 6 A,B)。一方、NAc では *cfos*、 Δ FosB の mRNA 発現、DARPP32 のリン酸化および *Drd1* 発現細胞における *cfos* 陽性細胞数は WT、KO マウスともに Baclofen 投与による影響を受けなかった (Fig 5 D-F; Fig 6 C,D)。

【考察】

本研究では、binge-like eating モデルにおいて、WT マウスでは HFD 摂食時に CPu および NAc の *Drd1* 発現ニューロンの活性化を認めた。先行研究では、ラットを用いた binge-like eating モデルにおいて CPu の *cfos* 陽性細胞数、NAc の Δ FosB 発現および DARPP32 リンの酸化が、嗜好性の高い食物摂取後に増加することが示されており本研究の結果と一致する。線条体の活性化部位は、摂取した飲食物の種類に依存することが報告されている。エタノールは NAc のドーパミンシグナルを有意に増加させ、脂肪摂取は CPu のドーパミンシグナルを有意に増加させることが報告されている。また、味覚は NAc のドーパミンシグナルに関与し、カロリーは CPu のドーパミンシグナル

に關与する報告もある。このようにカロリーの高い食事の **binge-like eating** には、CPu が重要な役割を担っていることが示唆されており本研究の結果とも一致する。

線条体ニューロン特異的 GABABR 欠損マウス (KO) は WT マウスと比較して、**binge-like eating** モデルにおける HFD 摂餌量の有意な増強を認めた。この時 CPu における Drd1 発現ニューロン活性は WT マウスと比較して有意な増強を認めたものの NAc では両群間で有意差を認めなかった。また、Baclofen の投与により、WT マウスでは HFD 摂餌量が低下し、CPu における Drd1 発現ニューロンの活性は抑制されたが、KO マウスでは摂餌量は変化せず CPu における Drd1 発現ニューロンの活性も抑制されなかった。すなわち、Baclofen による HFD の過食の抑制には、NAc ではなく CPu における Drd1 発現ニューロンの活性低下を伴うことが示された。

以上の結果より、線条体ニューロンの GABABR シグナルは HFD の **binge-like eating** に關与することが確認され、**binge-like eating** モデル下において CPu の GABABR シグナルは Drd1 シグナルを阻害することで過食の抑制をきたすことが示唆された。

【結語】

背側線条体ニューロンにおける GABABR シグナルは Drd1 シグナルの抑制を介して HFD の **binge-like eating** を抑制する。

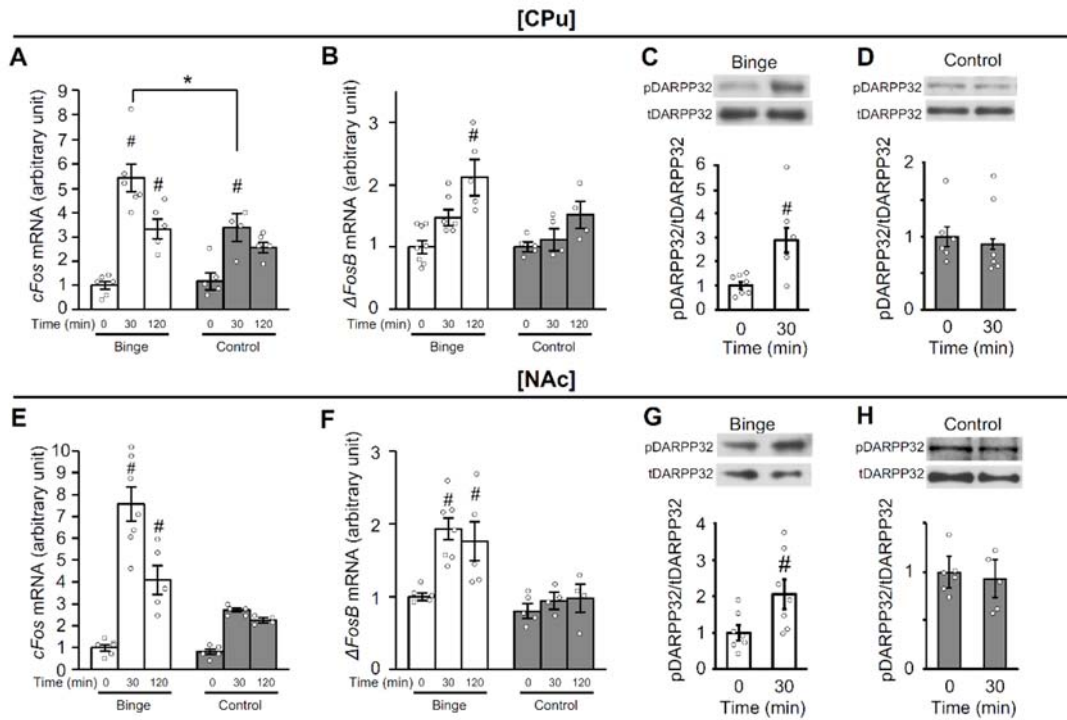


Figure 1. Intermittent access to a HFD induces binge-like eating with neural activation in the striatum.

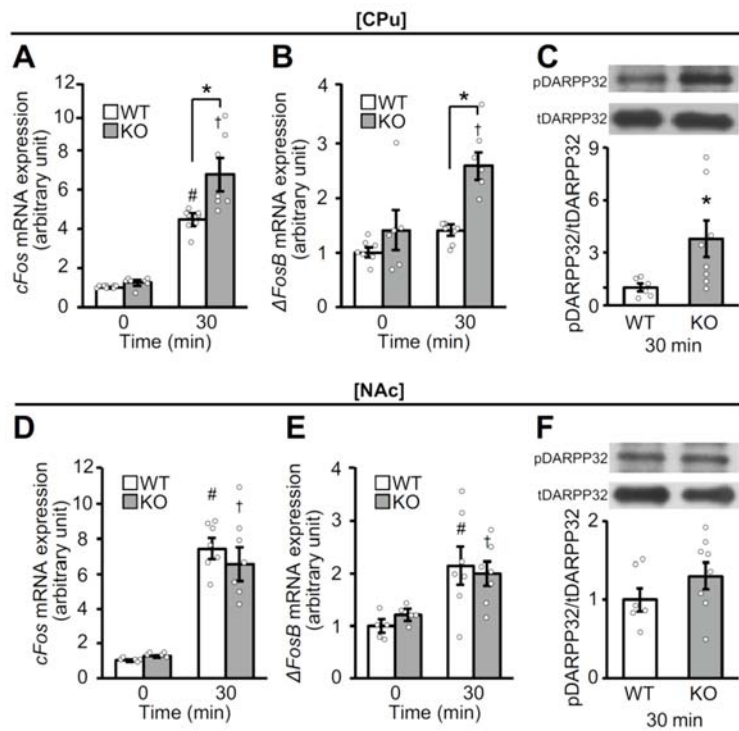


Figure 2. GABABR deficiency in striatum neurons increases expression levels of *cFos* and Δ FosB mRNAs as well as phosphorylation of DARPP32 in CPu neurons.

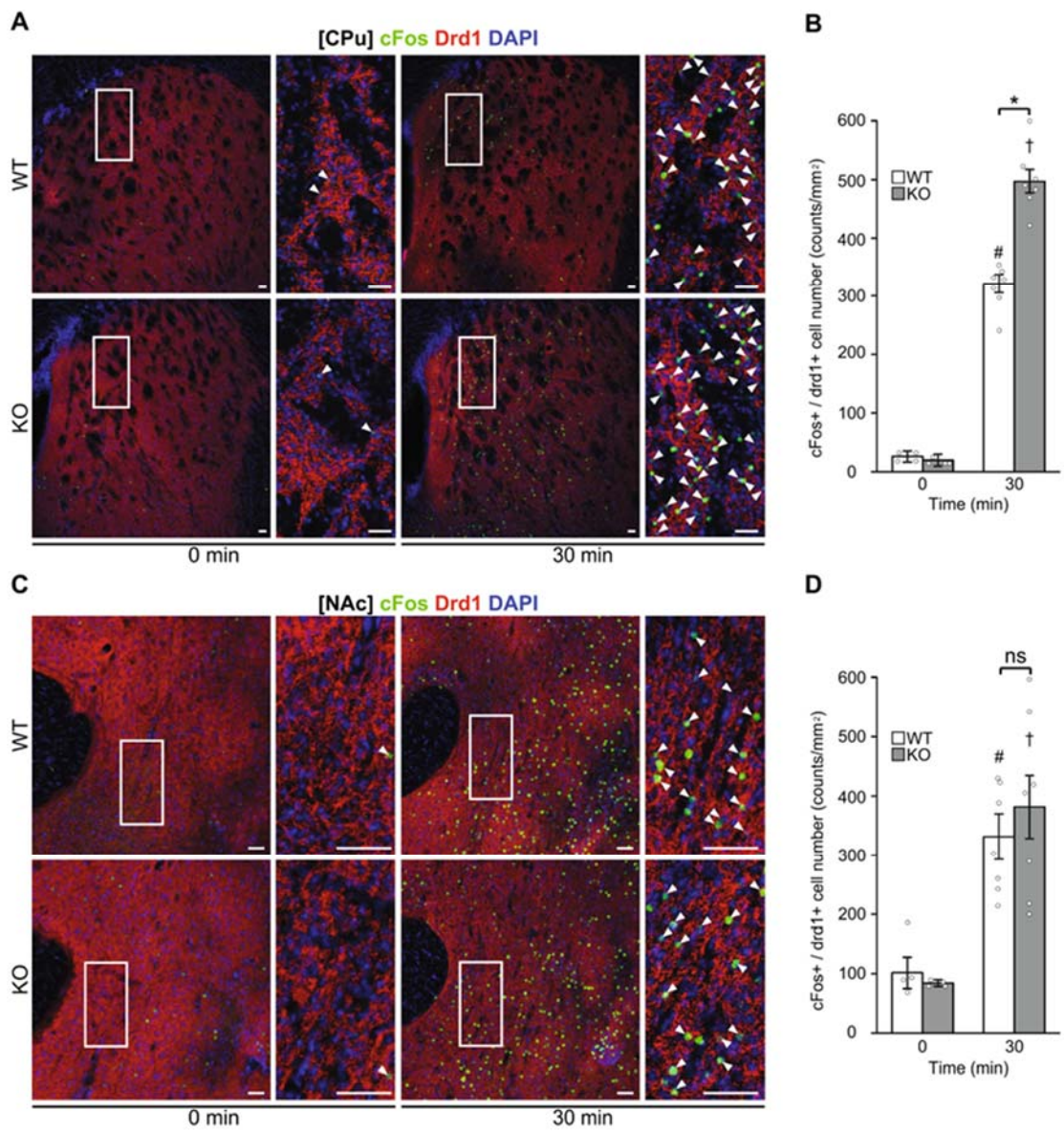


Figure 3. GABABR deficiency in striatum neurons increases expression of cFos + /drd1 + cells in CPu neurons.

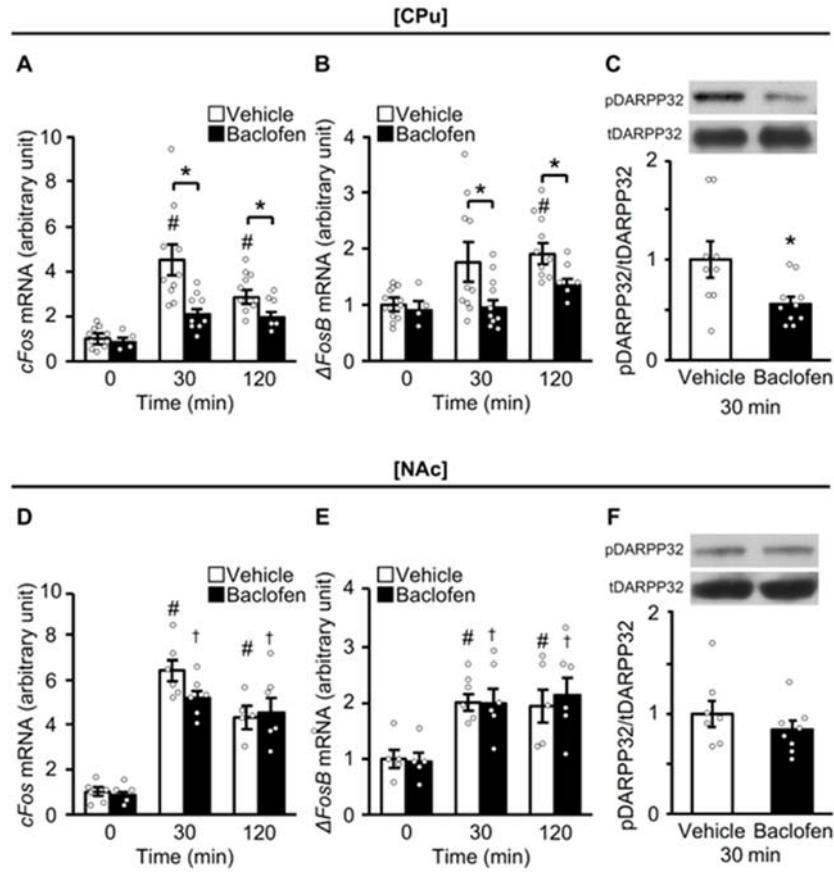


Figure 4. Baclofen suppresses *cFos* and $\Delta FosB$ mRNA expression levels as well as phosphorylation of DARPP32 in the CPu.

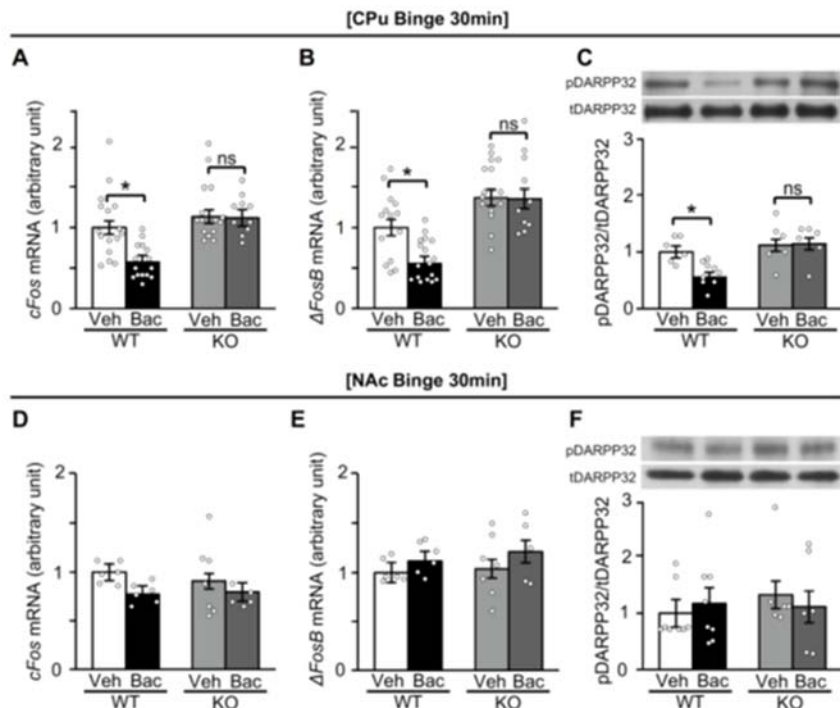


Figure 5. Suppressive effects of baclofen on *cFos* and $\Delta FosB$ mRNA expression levels as well as phosphorylation of DARPP32 in the CPu were absent in KO mice.

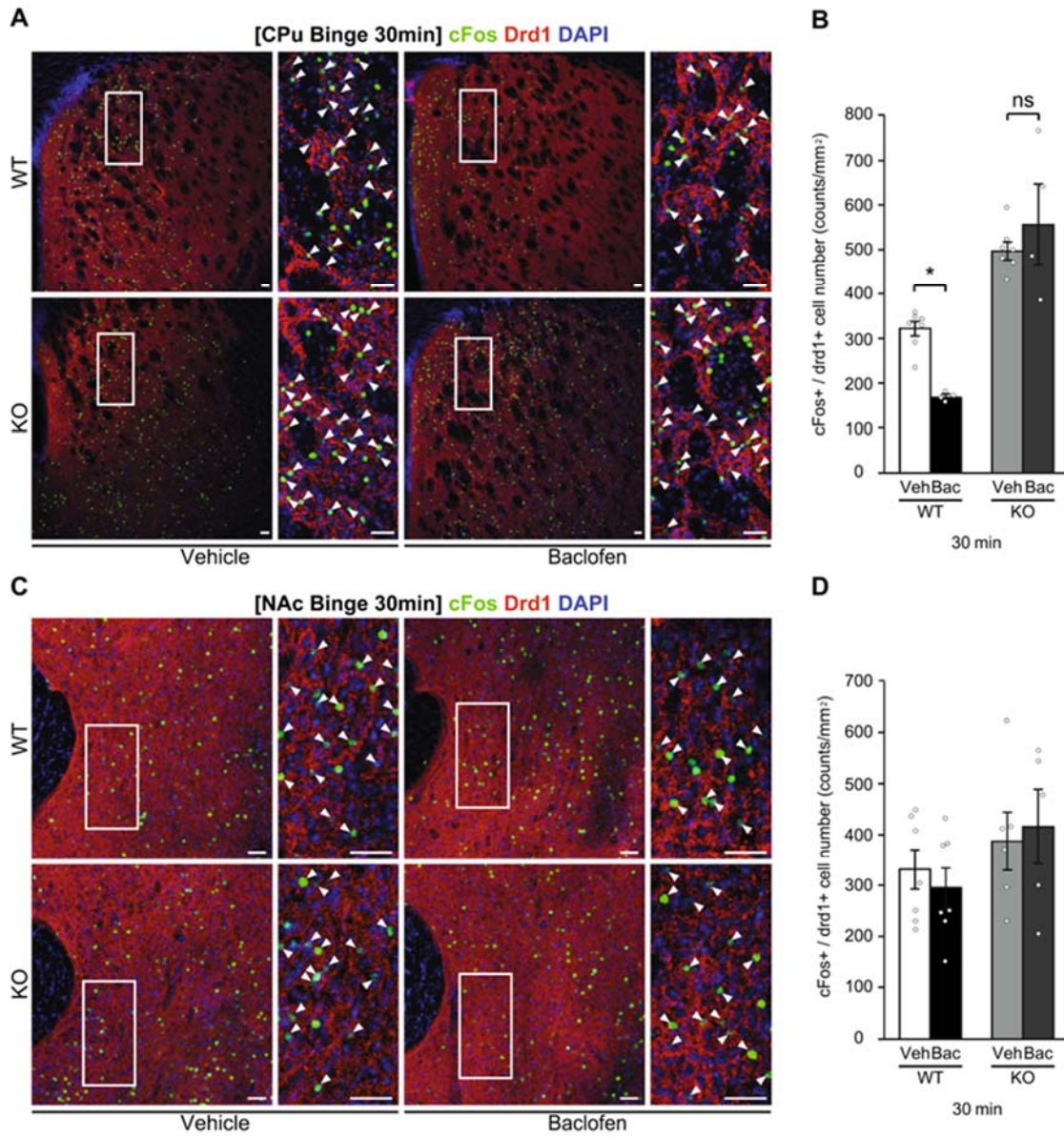


Figure 6. Suppressive effects of baclofen on cFos + /drd1 + cell expression in the CPu were absent in KO mice.