

満腹物質レプチンの摂食抑制および学習・記憶促進作用の中枢機序

大村 裕¹, 堀 信 顯², 白石 武昌³, 佐々木 和 男⁴
新 島 旭⁵, 武 田 弘 志⁶, 辻 稔⁶, 松 島 輝 彦⁶

¹日本臓器製薬・生物活性科学研究所, ²九州大学歯学部薬理

³東海大学医学部生理, ⁴富山大学工学部生体情報, ⁵新潟大学医学部生理, ⁶東京医大薬

ラットの摂食により, 血糖値とインスリン値が上昇し, それに脂肪細胞が反応して, レプチン (L) を分泌する. 濃度は 1.8ng/ml で血漿を 10ml とすると 10^{-10} M である. 約 1/1000 の濃度の L は脳に入り¹⁾ 摂食を抑制する. さらに海馬に作用して学習記憶を促進させる. これらの L の中枢作用機序について検討を行った.

1. 摂食調節を行う視床下部に対するレプチンの作用

ブドウ糖をニューロンに投与すると活動の上昇するブドウ糖受容ニューロンが満腹中枢 (VMH) に, 活動の抑制されるブドウ糖感受性ニューロンが摂食中枢 (LHA) にそれぞれ約 1/3 存在する. 前者はニューロン膜にブドウ糖受容体をもっており, ブドウ糖が結合すると, アデニル酸シクラーゼが活性化され, それによって cAMP ができてこれがタンパクキナーゼ A を活性化する. このキナーゼ A がニューロン膜にある K イオンチャネルをリン酸化するので K イオンチャネルは閉塞される²⁾. するとニューロンの膜電位は脱分極を起こしてニューロン活動は上昇することになる²⁾.

ブドウ糖感受性ニューロンはブドウ糖輸送体 III 型を持っており, ブドウ糖を運んで細胞内に取り入れ, それが ATP に変わる. この ATP が膜にある Na-K ATPase を活性化するので, Na-K ポンプが過剰に働いて細胞内の Na イオンを余分に追い出すため細胞内はよりマイナス, つまり膜電位は過分極になり, ニューロン活動は抑制される³⁾. これら 2 ニューロンが摂食調節物質に反応を示すのである.

図 1 は麻酔下ラットの VMH, LHA, 室傍核および弓状核ニューロンに対する電気泳動的に作用させたレプチンの効果である. 長潜時でブドウ糖受容ニューロンには促進的に, ブドウ糖感受性ニューロンには抑制的に作用している⁴⁾. VMH のニューロン 182 個中ブドウ糖受容ニューロンは 32 個でその 25 個の 78% がレプチンにより活動が高進している. 抑制されるニューロンはない. また非ブドウ糖受容ニューロン 150 個中レプチンで活動高進するものは 56 個の 37% で抑制されるものはない. すなわち有意にブドウ糖受容ニューロンに L は作用している. LHA の 98 個のニューロン中ブドウ糖感受性ニューロンは 41 個で L により 40% の 16 個が抑制である. 非ブドウ糖感受性ニューロン 157 個中 40% がやはり L により抑

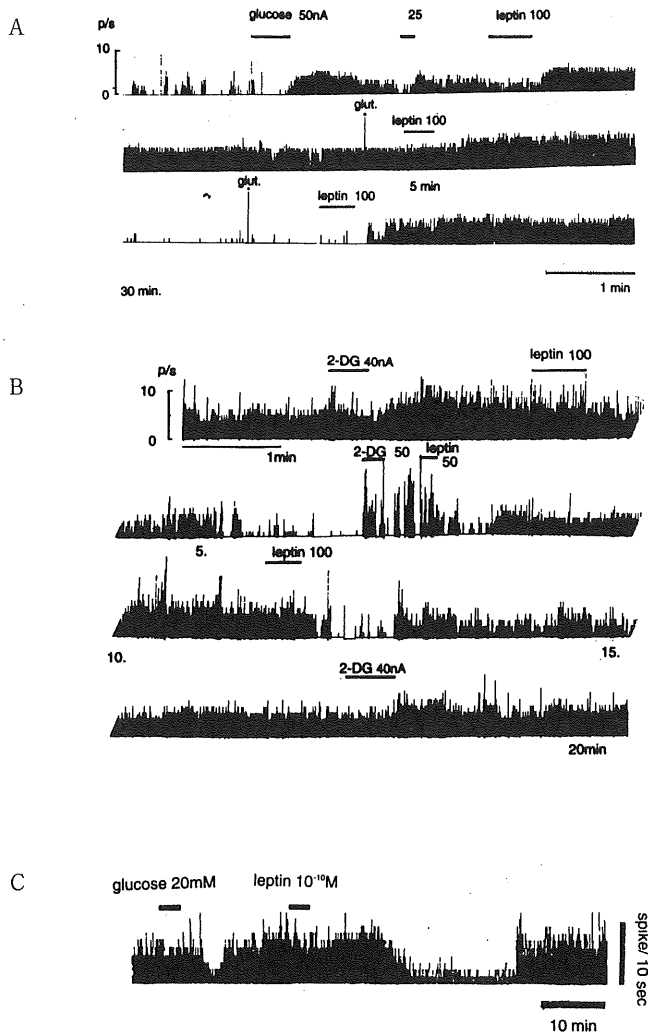


図1 VMH (A), LHA (B) および弓状核(C) ニューロンに対するレプチンの作用

A: 麻酔下ラット。ブドウ糖受容ニューロン, ブドウ糖の電気泳動的投与によって量一反応的に活動促進, レプチンの電気泳動的投与によっても活動促進。グルタミン酸 (glut) 投与で短期活動促進。上から下へ。

B: 麻酔下ラット。ブドウ糖感受性ニューロン, 2-デオキシ-D-ブドウ糖 (2-DG) 電気泳動的投与で活動促進 (ブドウ糖とは逆の反応), レプチンの電気泳動的投与で活動抑制。最初のレプチン投与では長い潜時の後に抑制。上から下へ。

C: 脳切片標本での *in vitro* 実験, ブドウ糖感受性ニューロン。レプチンを灌流液中に投与。長い潜伏の後に抑制。

制を受けている。促進されるニューロンはない。

室傍核の小細胞群の副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン (CRH) ニューロン92個中21個はブドウ糖感受性ニューロンでありこの全部に対し促進作用である。

弓状核のニューロン61個中18個はブドウ糖感受性ニューロンでありその90%にLは有意に抑制に作用している。これらニューロンはNPYによっても抑制である。

L受容体の細胞外ドメイン内のアミノ酸1個が異なる遺伝性肥満のズッカーラットを用いて実験を行なった。*In Vivo*の実験では、確実にLの作用は、VMH, LHA, 小細胞群 (CRFニューロン) のPVNならびに弓状核のニューロンに無効であった。

考察：L作用は、摂食促進物質である神経ペプチドY (NPY) の作用を抑制するためであるというデータがアメリカの研究者からサイエンスやネイチャーに数編現われた。NPYは弓状核で産生され、軸索輸送によって室傍核に放出されるペプチドである。これが摂食時に放出されて摂食を促進する。ところが昨年、NPYノックアウトマウスには正常マウスよりもLは強く摂食を抑制するというデータがシアトルのワシントン大学のErickson, J. C.らによってネイチャーに発表された⁵⁾。すなわちLの摂食抑制はNPYを介するものではないということである。われわれの実験結果は明らかに満腹中枢の活動を上昇させ、摂食中枢の活動を抑制している。室傍核小細胞群は満腹中枢と同様の性質をもつことがすでに明らかになっており、われわれの実験でもLに対して促進である。弓状核のNPY産生ニューロンに対してLは抑制作用をもつので、NPY産生は確かに機能的に抑制されている。

2. レプチンの学習記憶促進作用

A. 行動学的実験

実験はラットによる受動回避学習と水迷路学習である。どちらも午前10時にラット3群にLを0.5, 5および50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ をそれぞれ静注し30分後にテストにかかる。受動回避学習では1回目には図2A (Day 1) に示すように数秒で暗箱に入る。これが習得で、習得潜時と言う。2日目は午前10時にLを静注し、30分後に暗箱の前に1日目のラットを置く。すなわち前日の学習習得から24時間後で、これが保持テストである。これらラットが暗箱に入るまでの時間、学習保持潜時は図2A (Day 2) に示すように、5および50 μg L投与群で生理塩水投与群に比し有意に延長している。3日目、4日目は、連日の繰り返しの学習により、生理塩水投与とL投与で差がなくなっている。

水迷路学習では10分ごとに4回行う。図2Bに示すように、2日目に50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ L投与群がプールに隠した足場を生理塩水投与群に比し有意に早く見出している。0.5および5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Lでも、これが早くなっているが有意ではない。3日目から5日目までは、連日の学習効果がでてきて、すべての群で有意差がなくなっている。これらの成績からこの二つの学習テストで2日目にはLの最初の投与の効果が現われてきていると考えられる。

B. 学習記憶の神経生理学的基盤

海馬における長期増強 (LTP) の促進は、学習記憶促進の説明の一つである。前シナプス部位を高頻度で短時間 (100Hzで1秒間) 刺激すると後シナプス部で発生するシナプス電位が大となる。LTPとLの関係のみてみよう。ラット海馬の脳切片標本の実験で図3Aに示すように、シャッフアー側枝の電気的刺激によるCA1のシナプス電位のLTPは 10^{-14}M から 10^{-12}M Lで量一反応的に促進が起こって

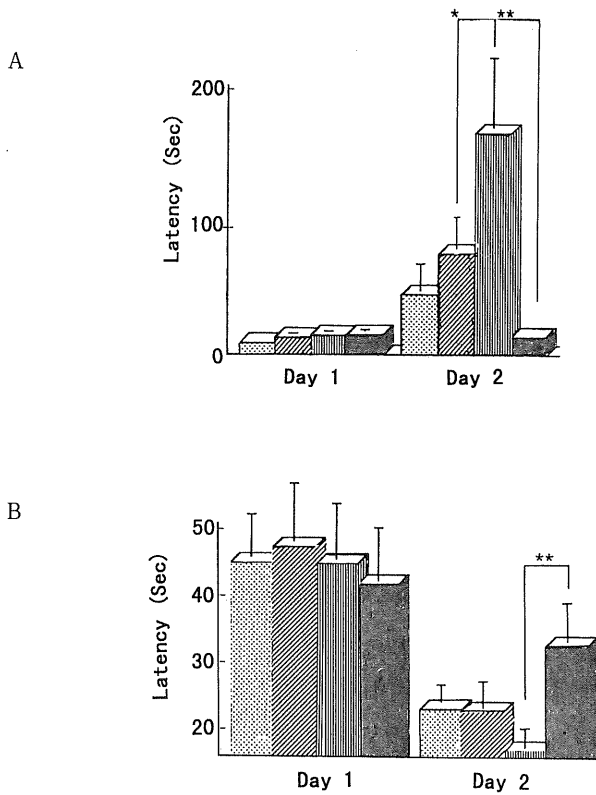


図2 ラット行動学的学習記憶実験

A: 受動回避学習, レプチン静注

0.5 μg/kg (点線), 5 μg/kg (斜線), 50 μg/kg (縦線) および生理塩水 (横線) それぞれ n = 7, Day 1, 午前10時レプチン投与後30分で暗箱の前にラットをおく。縦軸, 暗箱に入るまでの潜時 (習得潜時), Day 2, 午前10時レプチン投与後30分で暗箱の前に昨日のラットをおく。縦軸, 暗箱に入るまでの潜時 (保持潜時), 5 μg および 50 μg 投与群は有意に学習記憶促進。

B: 水迷路学習, レプチン静注

0.5 μg/kg (点線), 5 μg/kg (斜線), 50 μg/kg (縦線), 生理塩水 (横線) それぞれ n = 7, Day 1, 午前10時レプチン投与後30分で水泳。10分おきに4回実施。縦軸, 水中の足場を見付け這上るまでの潜時。Day 2 同じくレプチン投与後30分で水泳。50 μg/kg レプチン群が有意に早く足場を見つける。

いる。しかし $10^{-14}M$ では対照の生理塩水投与との間に有意差はない。ところが $10^{-10}M$ では LTP は明らかに抑制である。 $10^{-12}M$ L による LTP の促進には時間-反応的であり, 15分間投与で最大になる。したがって LTP の実験には15分間 L-リンガー液で灌流して, テタヌス刺激 (1秒間, 100Hz) を与えて, ついで生理塩水で灌流する。

長期抑圧 (long-term depression) について検討したのが図3Bである。15分間 L を投与して海馬切片を灌流している間, 1Hz でシャプファー側枝を刺激していく。L 投与を止めると同時に刺激も止め, CA1 シナプス電位の振幅を測定する。対照の生理塩水ではシナプス電位は図3Bに示すように約

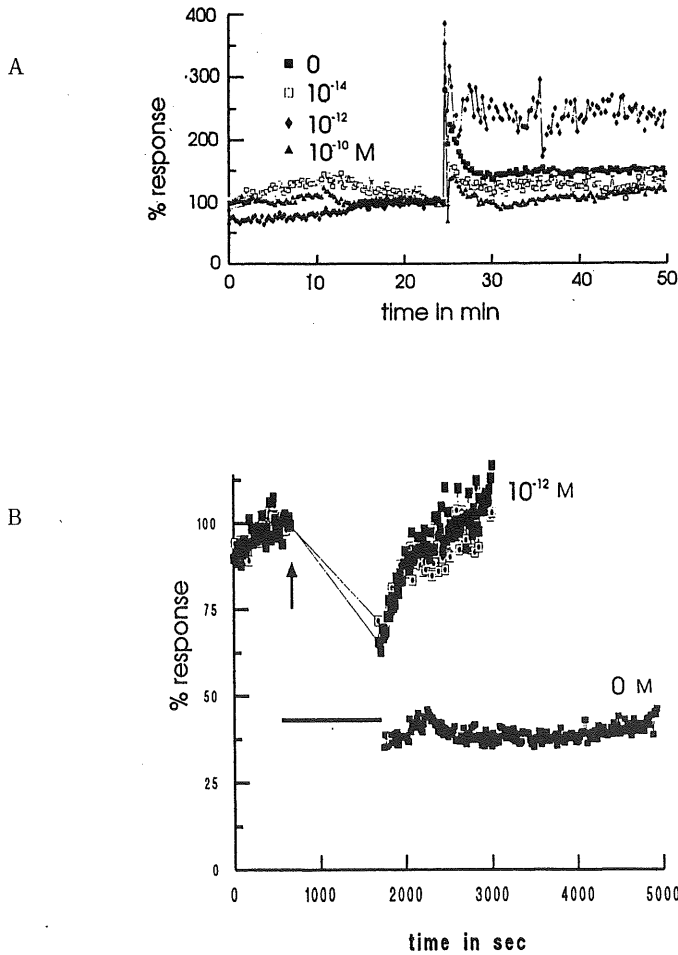


図3 学習記憶の神経生理学的基盤

A：長期増強 (LTP)，ラット脳海馬切片

シャッフアー側枝刺激によるCA1シナプス電位，テタヌス刺激100Hzで1秒間レプチンは15分間テタヌス刺激の直前まで投与。 10^{-12} Mで有意にLTP促進し， 10^{-10} Mで有意にLTP抑制。

B：長期抑圧 (LTD)。

10^{-12} Mレプチン15分間投与。その間シャッフアー側枝1Hz刺激。シナプス電位は10秒に1回刺激による発生。 10^{-12} MによりLTDは完全に回復。

47%に振幅が低下する。しかし 10^{-12} M Lでは、完全にこの抑圧を減じて正常の100%値にもどしている。 10^{-14} Mでは約85%に回復させている。ところが 10^{-10} Mでは62%までしか回復させない。

考察：満腹物質であるLがラットの摂食により血中に 10^{-10} M増加することはすでに述べている。このうち1/1000が脳内に入るとして 10^{-13} Mである。したがって 10^{-14} ~ 10^{-12} Mは生理的範囲で 10^{-10} Mになると薬理学的高濃度である。どうしてこのように濃度が増大すると機能の抑制が生ずるのか説明は難かしい。

学習記憶行動で用いた有効濃度は受動回避学習では 5×10^{-6} g/kg, 水迷路学習では 50×10^{-6} g/kg である。ラット 250g の血漿は約 10ml であるから, L の血中濃度はそれぞれ 7.5×10^{-9} M と 7.5×10^{-8} M である。1/1000 が脳に入るとすると 7.5×10^{-12} M と 7.5×10^{-11} M である。恐らくこれ以下が脳に入って学習記憶や LTP を促進させているのであろう。 10^{-10} M では LTP は抑制だからである。

3. 全体に対する考察

図4はいままで述べてきたLの生理作用を模式化したものである。LはVMH, LHA, 弓状核, PVNに作用して摂食を抑制する満腹物質であると同時に海馬に作用して, 学習記憶を促進させる。またPVNの小細胞群, つまりCRFニューロン群をLは促進させるから下垂体-副腎系に働いて, コルチコステロンを分泌させる。またCRFは交感神経系の運動ニューロン群のプールである中間外側柱に働いて, 交感神経系を活性化させる。したがって, 脾臓交感神経系に作用して, ナチュラルキラー細胞群の活性を低下させる⁶⁾。コルチコステロンは抗原抗体反応を抑えるから両者あいまって免疫機能を修飾させることになる。つまり自己免疫反応の抑制に働くことになる。しかしLは免疫担当細胞である単球やリンパ球の貪食作用を促進する⁷⁾。摂食によって脳に分泌されるaFGFも同様の作用をもっている^{8,9)}。

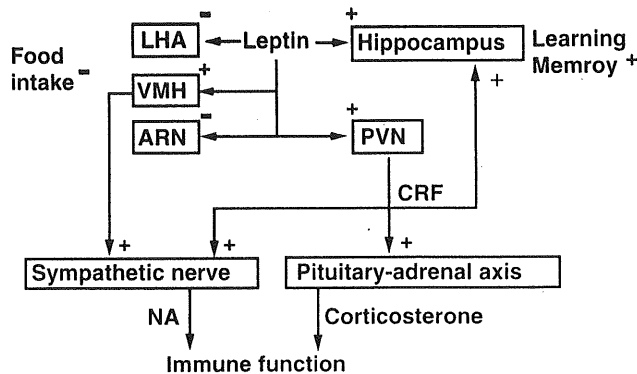


図4 レプチンの効果発現の模式図

ARN, 弓状核; corticosterone, コルチコステロン; CRF, 副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン; LHA, 視床下部外側野 (摂食中枢); Hippocampus, 海馬; PVN, 室傍核小細胞群; Pituitary-adrenal axis, 下垂体-副腎系; sympathetic nerve, 交感神経; VMH, 腹内側核 (満腹中枢)

文 献

- 1) Bank, W. A., Kastin, A. J., Huang, W., Jaspan, J. B. & Maness, L. M. (1996) : Peptides, 17 : 305-311
- 2) Minami, T., Oomura, Y. and Sugimori, M. (1986) : Electrophysiological properties and glucose responsiveness of guinea-pig ventromedial hypothalamic neurons *in vitro*. J. Physiol. 380 : 127-143
- 3) Oomura, Y., Ooyama, H., Sugimori, M., Nakamura, T. and Yamada, Y. (1974) : Glucose inhibition of the glucose-sensitive neuron in the rat laterl hypothalamus. Nature (Lond.), 247 : 284-286

- 4) Shiraishi, T., Sasaki, K., Nijima, A. and Oomura, Y. (1997) : Effects of ob protein, leptin. in the feeding related hypothalamic neuronal activity as an identification of affecting sites. Annual Neurosci. abst. 23 : 851
- 5) Erickson, J. C., Clegg, E. K., Paliniter, R. D. (1996) : Sensitivity to leptin and susceptibility to seizures of mice lacking neuropeptide Y. Nature 381 : 415-418
- 6) Take, S., Uchimura, Y., Kanemitsu, T., Katafuchi, T. and Hori, T. (1995) : Interferon- α act at the preoptic hyphalamus to reduce natural kilar cytotoxicity in rats. Am J. physiol, 268 : R1406-R1410
- 7) Lord, G. M., Matarese, G., Howard, J. L., Baker, R. J., Bloom, S. R. and Lechler, R. I. (1998) : Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. Nature 394 : 897-901
- 8) Matsumoto, I., Oomura, Y., Nijima, A., Sasaki, K. and Aikawa, T. (1998) : Acidic fibooblast growth factor activates hypothalamic-pituitary-adrenal axis in rats. Am. J. physiol. 274 : R503-R509
- 9) Ichinose, M., Sawada, M., Sasaki, K. and Oomura, Y. (1998) : Enhancement of phagocytosis in mouse peritoneal macrophages by fragments of acidic fibroblast growth factor (α FGF). Int. J. Immunopharmacol. 20 : 193-204