
哺乳類の生体時計調節機構:特に新たに発見した時計調節蛋白質 NMU
の作用機構の解明

16380201

平成16年度～平成18年度科学研究費補助金
(基盤研究(B))研究成果報告書

平成 19 年 3 月

研究代表者 村上 昇
宮崎大学農学部 教授

〈はしがき〉

受容体が先に同定され、それに結合する内因性リガンドが不明なものを総称してオーファン受容体（孤児受容体あるいは幽霊受容体）と言い、生体には未だ数百のオーファン受容体が存在すると言われている。本研究はオーファン受容体の内因性リガンドとして同定されたグレリンとニューロメジンUのホルモンの生理作用と生体時計調節機構についてのものである。

グレリンはオーファン受容体の一つである成長ホルモン分泌素受容体（GHS-R）の内因性リガンドとして、ラットおよび人の胃から1999年に発見された28個のアミノ酸からなるペプチドで、3位のセリン残基にオクタン酸が結合した極めて珍しい構造をしている。体内にはオクタン酸の修飾の無い単純ペプチドのデスアシルグレリンと先のアシル化したグレリンが存在する。私達はこのグレリンは胃の空腹情報を中枢に伝えるホルモンであり、強力な摂食亢進作用を有することを見出した。これとほぼ同時期に、別のオーファン受容体FM3とFM4の内因性リガンドとして、ニューロメジンU（NMU）を同定し、これが逆に摂食抑制ホルモンであることを見出した。生体時計は摂食時間を決定しているなど摂食の調節に重要な役割を果たしているが、一方で摂食が時計の調節に関与していることを示すデータも古くから蓄積されている。特に制限給餌による時計の同調作用などがその例である。そのため、摂食と時計との間にはかなり強固にリンクした機構が存在すると考えられており、その意味から、グレリンやNMUの研究は重要と思われた。

今回の研究では以下のような多くの新事実が明らかにされた。まず、NMUをラットの脳室へ投与すると、投与時刻依存性に行動リズムの位相変位をおこし、また視交叉上核においてFos蛋白質の発現と時計関連遺伝子per1 mRNA発現量の増加をおこした。新規蛋白質NMUが時計部位に局在して存在し、その受容体も同居していること、またNMUの投与で実際に視交叉上核にFosが発現したことから、NMUが視交叉上核に作用していることが証明された。さらに、NMUで位相が変位するときには、per1, per2, NGF1, NGF2, JunB, JunCなどの時計関連遺伝子mRNAの発現量も変化させたことから、NMUが時計のリズムの調節に重要な役割を演じていることは間違いない。次に、NMUのノックアウトマウスにおいて行動リズムを解析した。まず、12時間：12時間の明暗交代条件下では、12例中8例において、顕著なリズムが認められず（暗期に集中する行動リズムが認められなかった）、残り4例は暗期に集中した行動量のリズムが示された。一方、恒常暗下における自由継続リズムを解析したところ、パワースペクトラム解析において6例で約24時間のところにピークの発現が認められず、このことから、リズムの消失が推定された。残り6例中の5例は24時間の周期成分は確認されたが、行動量が減衰していた。また1例はワイルドと差の無いリズムを示した。以上の結果、ニューロメジンUは視交叉上核内において、光の同調機構および時計のリズム発信機構のいずれにも関与していると推測された。

また、グレリンや NMU のその他の研究からも多くの成果が挙げられた。グレリンの中枢投与による摂食亢進は主に弓状核の NPY/AGRP 細胞への作用であるが、一部はオレキシンニューロンにも作用している。末梢の胃から分泌されたグレリンの摂食亢進作用は、迷走神経節の知覚神経細胞でグレリン受容体が合成され、これが軸索輸送で神経終末に運ばれ、そこでグレリンと結して、その情報が中枢へ伝達されることによる。また、我々は最近ニューロメジン U と同じ受容体に作用するニューロメジン S を同定した。このホルモンはニューロメジン U とほぼ同じ時計に対して作用を有し、時計の発信に重要な役割を演じていることが判明した。

以上の多くの知見は 21 編の論文にまとめられた。これらの研究をサポートして頂いた文部科学省の科学研究費助成に心から深謝する次第である。

研究組織

研究代表者： 村上 昇 (宮崎大学農学部教授)
 研究分担者： 那須哲夫 (宮崎大学農学部准教授)
 (研究協力者：中原桂子 宮崎大学農学部准教授)

交付決定額

	直接経費	間接経費	合計
平成 16 年度	8,900,000 円	0	8,900,000 円
平成 17 年度	3,800,000 円	0	3,800,000 円
平成 18 年度	3,000,000 円	0	3,000,000 円
総計	15,700,000 円	0	15,700,000 円

研究発表

(1) 学会誌

- 1.K. Nakahara, R. Hanada, N. Murakami, H. Teranishi, H. Ohgusu, N. Fukushima, M. Moriyama, T. Ida, K. Kangawa, M. Kojima
 The gut-brain peptide neuromedin U is involved in the mammalian circadian oscillator system
Biochemical and Biophysical Research Communications 318:156-161,2004
- 2.K.Nakahara, Y. Egi, M.Kojima, R. Hanada, T.Ida, M. Miyazato, K.Kangawa, N.Murakami
 Neuromedin U is involved in nociceptive reflexes and adaptation to environmental stimuli in mice
Biochemical and Biophysical Research Communications 323:615-620, 2004
- 3.K Nakahara, K Fukui and N Murakami

Involvement of thalamic paraventricular nucleus in the anticipatory locomotor activity under food restriction in the rat

Journal of Veterinary Medical Science 66:1297-1300,2004

4.R Hanada, H Teranishi, J T Pearson, M Kurokawa, H Hosoda, N Fukushima, Y Fukue, R Serino, H Fujihara, Y Ueta, M Ikawa, M Okabe, N Murakami, M Shirai, H Yoshimatsu, K Kangawa, M Kojima

Neuromedin U has a novel anorexigenic effect independent of the leptin-signaling pathway

Nature Medicine 10:1067-1073, 2004

5.M. Yokoyama, K. Nakahara, M. Kojima, H. Hosoda, K. Kangawa, N. Murakami

Influencing the between-feeding and endocrine responses of plasma ghrelin in healthy dogs

European Journal of Endocrinology 152(1):155-160, 2005

6.S Shousha, K Nakahara, M Miyazato, K Kangawa, N Murakami

Endogenous neuromedin U has anorectic effects in the Japanese quail

General Comparative and Endocrinology 140(3):156-63. 2005

7.K Mori, M Miyazato, T Ida, N Murakami, R Serino, Y Ueta, M Kojima, K Kangawa

Identification of neuromedin S and its possible role in the mammalian circadian oscillator system

EMBO Journal 24(2):325-335,2005

8.S Koda, Y Date, N Murakami, T Shinbara, T Hanada, K Toshinai, A Nijima, M Furuya, N Inomata, K Osuye, M Nakazato

The Role of the Vagal Nerve in Peripheral PYY₃₋₃₆-Induced Feeding Reduction in Rats

Endocrinology. 146(5):2369-2375,2005

9.S Shousha, K Nakahara, M Kojima, M Miyazato, H Hosoda, K Kangawa, N Murakami

Differential effects of peripheral and central ghrelin on regulation of food intake in the Japanese quail

General Comparative and Endocrinology 141(2):178-183, 2005

10.T Ida, K Mori, M Miyazato, S Abe, K Nakahara, M Nishihara, K Kangawa, N Murakami

Neuromedin S is a novel anorexigenic hormone

Endocrinology 146:4217-4223,2005

11.M Yokoyama, N Murakami, K Naganobu, H Hosoda, K Kangawa and K Nakahara

Relationship Between Growth and Plasma Concentrations of Ghrelin and Growth Hormone in Juvenile Beagle Dogs

Journal of Veterinary Medical Science 67:1191-1194, 2005

12.S Shousha, K Nakahara, M Sato, K Mori, M Miyazato, K Kangawa and N Murakami

Effect of neuromedin S on feeding regulation in the Japanese quail

Neuroscience Letters 91:87-90,2006

13. K Nakahara, Y Nakagawa, Y Baba, M Sato, K Toshinai, Y Date, M Nakazato, M Kojima, M Miyazato, H Hosoda, K Kangawa and N Murakami
Maternal ghrelin plays an important role in fetal development during pregnancy.
Endocrinology 147(3):1333-1342, 2006
14. Toshinai K, Yamaguchi H, Sun Y, Smith RG, Yamanaka A, Sakurai T, Date Y, Mondal MS, Shimbara T, Kawagoe T, Murakami N, Miyazato M, Kangawa K, Nakazato M.
Des-acyl Ghrelin Induces Food Intake by a Mechanism Independent of the Growth Hormone Secretagogue Receptor.
Endocrinology 147(5):2306-2314,2006
15. H.Sawada, H.Yamaguchi, T.Shinbara, K.Toshinai,MS Mondal, Y.Date, N.Murakami, T.Katafuchi, N.Minamino, H.Nunoi, M.Nakazato
Central effects of calcitonin receptor-stimulating peptide-1 on energy homeostasis in rats
Endocrinology 147(4):2043-2050,2006
16. Y Date, T Shimbara, S Koda, K Toshinai, T Ida, N Murakami, M Miyazato, K Kokame, Y Ishizuka, H Kageyama, S Shioda, K Kangawa, M Nakazato
Peripheral ghrelin transmits orexigenic signals through the nonadrenergic pathway from the hindbrain to the hypothalamus
Cell Metabolism 4(4):323-31,2006
17. M Sato, K Nakahara, S Goto, H Kaiya, M Miyazato, Y Date, M Nakazato, K Kangawa and N Murakami
Effects of ghrelin and des-acylghrelin on neurogenesis of the rat fetal spinal cord
Biochemical and Biophysical Research Communications 350:598-603,2006
18. P.Verbeek, T. Iwamoto and N. Murakami
Differences in aggression among wild type and domesticated fighting fish are context dependent.
Animal Behavior 73:75-83,2007
19. T. Ida, M.Miyazato, K.Naganobu, K.Nakahara, M.Sato, S.Rin, H.Kaiya, N.Murakami, K.Kangawa
Purification and characterization of feline ghrelin and its possible role.
Domestic Animal Endocrinology 32(2):93-105,2007
20. S.Shousha, K.Nakahara, T.Nasu T.Sakamoto and N.Murakami
Effect of glucagon-like peptide-1 and -2 on regulation of food intake, body temperature and locomotor activity in the Japanese quail
Neuroscience Letters 415(2):102-102,2007
21. M. Sato, K. Nakahara, M. Kojima, M.Miyazato, K.Kangawa and N.Murakami
Regulation of GH secretagogue receptor (GHS-R) gene expression in the rat nodose ganglion
J. Endocrinology in press

(2) 口頭発表

1	猫グレリンの構造決定と、その生理作用について	第 138 回日本獣医学学会 秋季大会 (札幌)	2004 年 9 月	○井田隆徳 宮里幹也 永延清和 中原桂子 村上 昇 林 星子 海谷啓之 寒川賢治
2	ビーグル犬におけるグレリンの成長ホルモン促進および摂食促進効果	第 138 回日本獣医学学会 秋季大会 (札幌)	2004 年 9 月	○横山政幸 中原桂子 寒川賢治 村上 昇
3	管摂食関連ペプチド、グレリン、ニューロメジン U およびニューロペプチド YY の摂食中枢への作用機序について	第 138 回日本獣医学学会 秋季大会 (札幌)	2004 年 9 月	○片山愛子 阿部信介 中原桂子 西原真杉 寒川賢治 村上 昇
4	妊娠期グレリンの胎児成長に及ぼす効果とその作用機序について	第 138 回日本獣医学学会 秋季大会 (札幌)	2004 年 9 月	○村上 昇 馬場由紀子 中川まり 中村潤子 寒川賢治 中原桂子
5	ニューロメジン U の視交叉上核 (生態時計機構) への作用とその機序について	第 138 回日本獣医学学会 秋季大会 (札幌)	2004 年 9 月	○中原桂子 花田礼子 児島将康 寒川賢治 井田隆徳 岩永智江 村上 昇
6	ニューロメジン U (NMU) の反射機構および環境適応への関与	第 55 回西日本生理学会 秋季大会 (福岡)	2004 年 10 月	○中原桂子 花田礼子 児島将康 寒川賢治 井田隆徳 岩永智江 村上 昇

7	猫グレリンの構造決定と、その生理作用について	第55回西日本生理学会 秋季大会 (福岡)	2004年10月	○井田隆徳 宮里幹也 佐々木睦 山崎まゆ 安田達司 中原桂子 村上 昇 海谷啓之 寒川賢治
8	グレリンとニューロメジンU (NMU) の中枢作用機序について	第55回西日本生理学会 秋季大会 (福岡)	2004年10月	○阿部信介 片山愛子 中原桂子 村上 昇
9	Effect of ghrelin and neuromedin U (NMU) on food intake in Japanese quail	第55回西日本生理学会 秋季大会 (福岡)	2004年10月	○Saad M Shousha 中原桂子 村上 昇
10	慢性アルコール性肝臓障害、胃粘膜障害へのグレリンおよび乳酸菌投与の影響	第55回西日本生理学会 秋季大会 (福岡)	2004年10月	○石打智津 中原桂子 村上 昇
11	妊娠ラットのグレリン (Ghrelin) の胎児成長に及ぼす影響(I)	第55回西日本生理学会 秋季大会 (福岡)	2004年10月	○馬場由紀子 中原桂子 村上 昇
12	妊娠ラットのグレリン (Ghrelin) の胎児成長に及ぼす影響(II)	第55回西日本生理学会 秋季大会 (福岡)	2004年10月	○中川まり 中原桂子 村上 昇
13	新規ペプチド“ニューロメジンS”のウズラの摂食機構への関与	第140回日本獣医学会 秋季大会 (鹿児島)	2005年9月	○Saad M Shousha 中原桂子 佐藤美穂 森 健二 宮里幹也 寒川賢治 村上 昇

14	ラットの胎児数および幼児数の制限と成長過程におけるグレリンとの関係	第 140 回日本獣医学 学会 秋季大会 (鹿児島)	2005 年 9 月	○西郷みづほ 中原桂子 寒川賢治 村上 昇
15	摂食促進ホルモン“グレリン”と抑制ホルモン“ニューロメジンU”の室傍核および弓状核での作用比較	第 140 回日本獣医学 学会 秋季大会 (鹿児島)	2005 年 9 月	○村上 昇 中原桂子 西原真杉 寒川賢治
16	ラット胎仔脊髄の神経前駆細胞に対するグレリンおよびデスアシルグレリンの細胞増殖効果	第 140 回日本獣医学 学会 秋季大会 (鹿児島)	2005 年 9 月	○佐藤美穂 中原桂子 寒川賢治 村上 昇
17	新規生理活性ペプチド、Neuromedin S の摂食行動に対する作用について	第 140 回日本獣医学 学会 秋季大会 (鹿児島)	2005 年 9 月	○井田隆徳 森 健二 宮里幹也 江木 裕 中原桂子 佐藤美穂 西原真杉 寒川賢治 村上 昇
18	グレリン分子の多様性と生理活性	日本畜産学会第 106 回大会企画シンポ ジウム (福岡)	2006 年 3 月	○村上 昇 中原桂子 井田隆徳 寒川賢治
19	Effects of ghrelin and des-acylghrelin on neurogenesis of the rat fetal spinal cord.	21 世紀 COE 国 際シンポジウム (宮崎)	2006 年 8 月 29 日	○S. Goto M.Sato K.Nakahara H.Kaiya M.Miyazato K.Kangawa N.Murakami
20	新たに発見した自然発症肥満、糖尿病マウス“daruma”の特徴について	第 142 回日本獣医学 学会 秋季大会 (山口)	2006 年 9 月 22 日	○佐々木睦 中原桂子 岩永智江 村上 昇

21	ニューロメジンSの心臓機能に及ぼす効果	第142回日本獣医学会 秋季大会 (山口)	2006年9月22日	○坂本拓巳 中原桂子 児島将康 寒川賢治 村上 昇
22	ニューロメジンSの視交叉上核および視索上核のホルモン分泌細胞への作用	第142回日本獣医学会 秋季大会 (山口)	2006年9月22日	○守 泰広 中原桂子 寒川賢治 村上 昇
23	ラットの胎児期過体重および幼児期過体重が成熟後の高脂肪食摂取による肥満に及ぼす影響	第142回日本獣医学会 秋季大会 (山口)	2006年9月22日	○村上 昇 西郷みづほ 中村潤子 寒川賢治 中原桂子
24	Effects of running wheel deprivation on food consumption and corticosterone secretion in rats	Society for Neuroscience 36nd Annual Meeting (アトランタ)	2006年10月17日	○M.Bannai K.Nakahara M.Takahashi N.Murakami

(3) 出版物

村上 昇、中原桂子、寒川賢治：「グレリンと胎児・新生児」日本臨床社 「臨床分子内分泌学」
392-395,2004 松尾壽之編集

研究成果による工業所有権の出願・取得状況

出願番号：特願 2007-046110 (平成 19 年 2 月 26 日出願)

発明の名称：内臓脂肪型肥満と糖尿病を発症するマウス

発明者：村上 昇、中原桂子