

3. 視床下部オレキシン神経の機能： エネルギーバランスに応じた適応行動の制御

桜井 武*

野生動物が摂食行動など動機を必要とする行動を確実にするためには、高い覚醒レベルを維持することが必要である。適切な摂食行動をするためには、適切な時間に覚醒し、モチベーションを持って行動することが求められる。食物が適切に得られず、エネルギーバランスが負に傾くと、動物は覚醒レベルが上昇し、自発運動量が増加することが以前から知られている。このことは、食物を探すための適応行動に必要であると考えられるが、その分子メカニズムや、生理的な機構は解明されていない。視床下部のオレキシン産生神経は、グルコース、レプチン、グレリンなど、エネルギーバランスの指標となる因子によって制御されている。また、オレキシン神経を選択的に除去したマウスでは、野生型のマウスにみられる上記のような絶食下における適応反応がみられない。このような結果から、オレキシン神経系はエネルギーバランスに応じて覚醒や適応行動を制御することによって、適切な摂食行動を支える役割を持っていることが推測される。

Roles of the hypothalamic orexin neurons : Regulation of adaptive behavior according to energy balance of animals

TAKESHI SAKURAI Department of Pharmacology, Institute of Basic Medical Sciences, University of Tsukuba



*さくらい・たけし：筑波大学大基礎医学系薬理学助教授。平成5年筑波大学基礎医学系講師。平成11年現職。主研究領域 / 視床下部の機能に関する研究。

Key words

オレキシン
エネルギーバランス
摂食行動
視床下部

1. オレキシンとその受容体

1998年にわれわれのグループは、オーファンG蛋白質共役受容体に対するリガンドとして生理活性ペプチド2種を同定・構造決定し、オレキシン(orexin)-Aおよび-Bと命名した¹⁾。オレキシン-Aと-Bは、130残基(ラット, マウス)または131残基(ヒト)の共通の前駆体(プレプロオレキシン)から生成される。オレキシン-Aは33アミノ酸残基, オレキシン-Bは28アミノ酸残基からなるペプチドで、オレキシン-Aは分子内に2対のジスルフィド結合を有する。一方、de LeceaらはPCR-subtraction法を用いて視床下部にのみ特異的に発現するmRNAを同定し、それにコードされる二つの神経ペプチドを推定し、ヒポクレチン(Hypocretin)-1および-2と命名した²⁾。当初発表されたヒポクレチンのペ

チド構造はcDNA配列からの推測であり、その構造はオレキシンとは異なっていたが、mRNA配列は完全に同一であり、実際にはオレキシンとヒポクレチンは同一の神経ペプチドである。そのため、現在ではオレキシン-Aとヒポクレチン-1, オレキシン-Bとヒポクレチン-2は同一のペプチドを指す。

ほ乳類においては、オレキシン受容体には2種のサブタイプが存在する。両者ともG蛋白質共役受容体で、OX1受容体のオレキシンAに対する親和性は、オレキシンBに対する親和性に比較して50倍ほど高い。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る¹⁾(図1)。

2. オレキシン神経系

1) オレキシン神経の局在とその投射系

オレキシンは、摂食中枢として知られてい

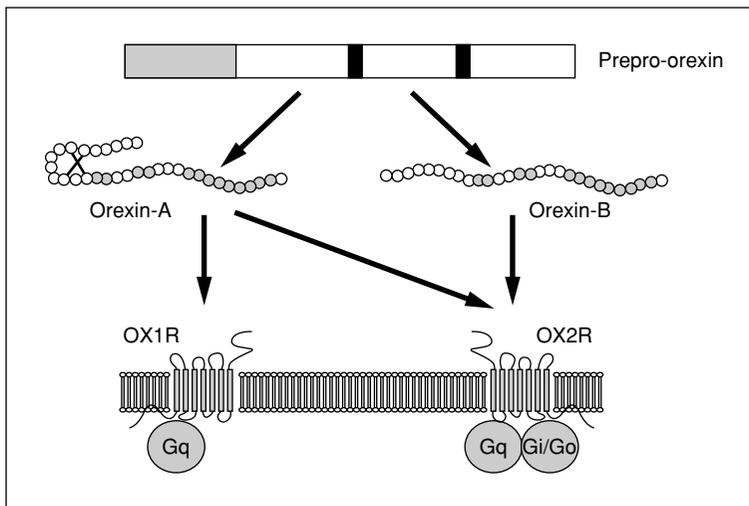


図1 オレキシン系の概要

A. オレキシン-Aと-Bの構造。オレキシン-Aは33アミノ酸残基からなり、分子内に2対のジスルフィド結合をもつ。この構造は、ヒト、マウス、ラット、ブタ、ウシ、イヌで完全に保存されている。オレキシン-Bは28残基の直鎖状のペプチドである。ヒトとマウスで2残基の違いがある。B. オレキシン-Aと-Bは共通の前駆体プレプロオレキシン(prepro-orexin)から生成される。オレキシンの受容体には2種のサブタイプが知られており、OX1受容体(OX1R)はオレキシンAに選択的であるが、OX2受容体(OX2R)はオレキシン-A、-Bの両者を受容する。

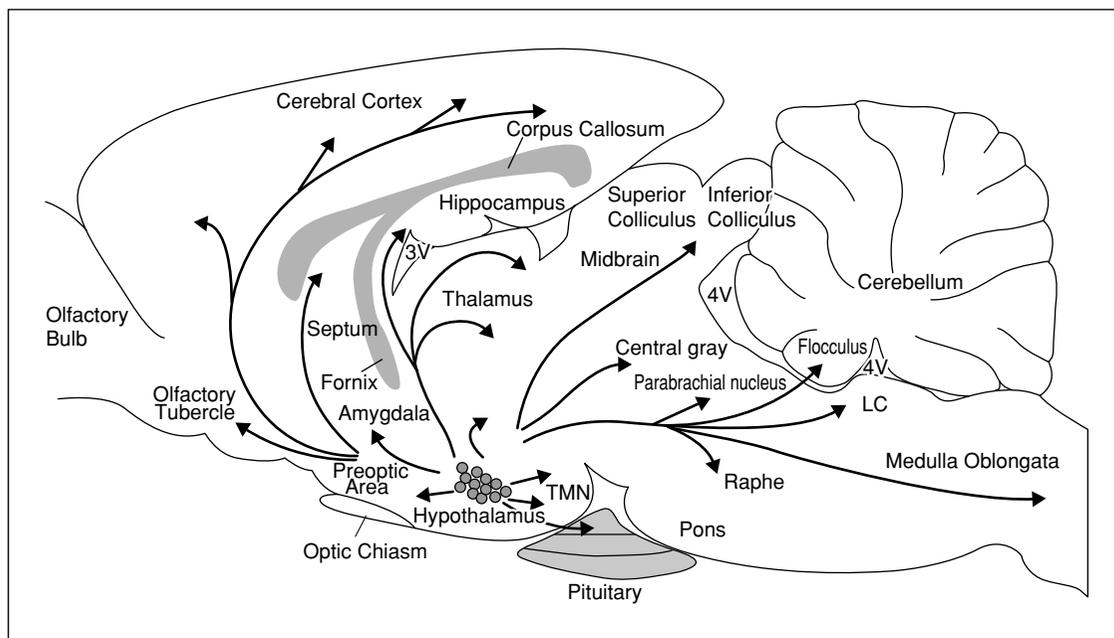


図2 ラット脳内におけるオレキシン神経の投射様式模式的に示したものの
 オレキシン神経の細胞体は視床下部に限局するが、投射先は小脳を除く中枢神経系の全域にわたっている。脳幹のモノアミン作動性神経、コリン作動性神経、視床の室傍核など、覚醒・睡眠機構に関与する部分に顕著な投射がみられる。

る視床下部外側野、およびその周辺領域に散在する特定のニューロンに特異的に発現している。この分野はメラニン凝集ホルモン (melanin concentrating hormone ; MCH) と酷似しているが、MCH とオレキシンは共存せず、別々の神経細胞によって産生される。一方、オレキシン産生神経にはダイノルフィン (dynorphin) が共存している。視床下部内全般にオレキシン様免疫活性陽性の神経線維、神経終末がみられるが、摂食行動に関係の深い弓状核 arcuate nucleus と腹内側野 ventomedial hypothalamus には密な投射がみられる。

オレキシン神経の投射は、視床下部内にとどまらず、小脳を除く中枢神経系全域にわたっている³⁾ (図2)。特に、モノアミン神経系の起始核である青斑核 locus coeruleus (ノルアドレナリン作動性)、縫線核 raphe nuclei (セロトニン作動性)、結節乳頭体核 tuber o-

mamillary nucleus (ヒスタミン作動性)、および腹側被蓋核 ventral tegmental area (ドーパミン作動性) に顕著な投射がみられる。また、橋のコリン作動性神経の起始核 (外背側被蓋核 laterodorsal tegmental nucleus ; LDT と脚傍被蓋核 peduncular opontine tegmental nucleus ; PPT) にも密な投射がみられる。これらの核は、覚醒レベルの維持、覚醒・睡眠リズムの制御や情動に深くかかわっている。また、青斑核には、OX 1 受容体、結節乳頭体核には OX 2 受容体、そして縫線核には両方のオレキシン受容体の発現がみられる⁴⁾。

一般に、オレキシン受容体も投射先に一致して脳内に広範に存在するが、サブタイプによって組織分布はかなり異なっている。OX 1 受容体は、ラット脳において海馬、扁桃体、前頭葉の皮質、視床、視床下部(前部)、脳幹の青斑核などに広く分布している。OX 2 受容

体は、視床下部(外側野, 背内側野, 弓状核), 縫線核, 結節乳頭体核, 外背側被蓋核と脚傍核などで発現している⁵⁾。

2) オレキシン神経の入力系

一方, オレキシン神経への入力系(求心系)については不明な部分が多いが, オレキシン神経の約半数はレプチン受容体を発現しており, レプチンによる抑制を受けている可能性がある。また, オレキシン神経はインスリンの腹腔内投与による低血糖時に活性化される。一方, 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イナベーションされていることが示唆されている。これらの結果から, オレキシン神経は摂食行動に関連する神経ペプチドによる神経性の入力, 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ていると考えられる。

われわれは, ヒトオレキシンプロモーターを使って, オレキシン神経に特異的に enhanced-green fluorescent protein (EGFP) を発現させたマウスを作成し, このマウスの視床下部から EGFP の蛍光を指標としてオレキシン産生神経を単離し, パッチクランプ法によりさまざまな生理活性物質がオレキシン神経の活性に影響を与える影響を検討した。その結果, オレキシン神経は低血糖下で活性化され, レプチンによって抑制, グレリンによって活性化されることが明らかになった。さらにオレキシン神経は, セロトニン, ノルアドレナリンにより抑制され, アセチルコリンによって活性化されることが明らかになった^{5,6)}。

また, われわれはヒトオレキシンプロモーターを使って, 破傷風毒素の C 末端タンパクと EGFP の融合タンパク質をオレキシン神経に発現するトランスジェニックマウスを作成した。このマウスでは, オレキシン神経が

発現する融合蛋白質が逆行性にオレキシン神経の入力系の神経細胞に取り込まれ, 組織学的な解析によりオレキシン神経の入力系が明らかになった。オレキシン神経は, 視索前野から GABA 作動性, 縫線核からセロトニン作動性の inhibitory の入力を受け, 一方, 前脳基底部からコリン作動性の excitatory の入力を受けていることが明らかになった。

以上のことから, オレキシン作動性神経は視床下部でモニターした代謝に関する情報や, 覚醒状態を制御する系からのフィードバック情報を統合し, 大脳皮質や辺縁系, あるいは脳幹のモノアミン作動性神経, コリン作動性神経に伝達する役割を担っていると思われる。

3. オレキシンの薬理作用

オレキシンには, 当初報告された摂食量の増加のほかにもさまざまな薬理活性があることが報告されている。たとえば, 動物の脳室内に投与すると自発運動量の亢進, 常同行動の顕在化, 飲水量を増加させる作用, 覚醒レベルの増加, 交感神経系の活性化が認められる。血中コルチコステロン濃度の上昇, プララクチン濃度の低下など, 内分泌系への作用も観察される。これらの知見を総合すると, オレキシンが動物の覚醒レベルを高め, モチベーションを高くする作用を持っていることを示している。

4. オレキシンと睡眠・覚醒

近年, オレキシン系の機能障害と, 睡眠障害であるナルコレプシーとの関連に注目が集まっている。ナルコレプシーは, ①日中の耐え難い眠気, ②情動(強い喜びや驚き)に誘発される脱力発作(カタプレキシー), ③入眠時幻覚, ④入眠時における麻痺を 4 主徴とす

表 ナルコレプシーの動物モデルとヒトナルコレプシーの比較

		表現系の特徴	オレキシシステムの異常
イヌ (自然発生モデル)	家族例	脱力発作 (+) 睡眠・覚醒状態の分断化	OX2R 遺伝子変異 髄液オレキシン濃度正常
	孤発例	脱力発作 (+) 睡眠・覚醒状態の分断化 (家族例より重症)	髄液オレキシン A 濃度 測定限界以下
マウス (genetic engineering)	プレプロオレキシン (-/-)	脱力発作 (+) 重度の睡眠・覚醒状態の分断化 SOREM	prepro-orexin 遺伝子欠損
	OX1R (-/-)	脱力発作 (-) ごく軽度の睡眠・覚醒状態分断化	OX1R 遺伝子欠損
	OX2R (-/-)	脱力発作 (+) 睡眠・覚醒状態の分断化 (リガンド KO よりも軽度)	OX2R 遺伝子欠損
	orexin/ataxin-3	脱力発作 (+) 重度の睡眠・覚醒状態の分断化 SOREM	オレキシン神経の変性
ヒト・ナルコレプシー	孤発例	カタブレキシー (+) 睡眠・覚醒状態の分断化 SOREM	髄液オレキシン A 濃度 測定限界以下 オレキシン神経の消失 (変性?)
	家族例	カタブレキシー (+) 睡眠・覚醒状態の分断化 SOREM	髄液オレキシン A 濃度 正常例も存在
	de novo mutant	早期発症 (6 カ月) カタブレキシー重症	プレプロオレキシン 遺伝子の点変異 髄液オレキシン濃度 測定限界以下

る睡眠障害であり、決して治癒することのない生涯にわたる疾患である。これらの症状は、覚醒・睡眠の構築が乱れることに起因しており、睡眠・覚醒の断片化、覚醒相から直接 REM 睡眠に陥る現象 (sleep-onset REM 現象) の出現が特徴的である。

オレキシン系の異常がナルコレプシーの病態に深くかかわっていることを示す最初の鍵は、まず動物モデルから見いだされた。Lin らは、遺伝性のナルコレプシーのモデルである犬のナルコレプシーの原因遺伝子が、OX2 受容体をコードする遺伝子であることを見いだした⁷⁾。一方 Chemelli らは、オレキシン遺伝子欠損マウスがナルコレプシー様の睡眠障害を呈することを示した⁸⁾。

こうした結果から、ナルコレプシー様の表

現系とオレキシン系の機能異常に密接な関連があることが示された。その後、ナルコレプシーの患者の死後脳において、オレキシン産生神経の数の著しい減少が報告され、ナルコレプシーにおいて、オレキシン産生神経の後天的な脱落がナルコレプシーの病態に深く関連していることが示された⁹⁾。ナルコレプシーの動物モデルとヒトナルコレプシーの比較を表に示した。われわれは、後天的に特異的にオレキシン神経を除去したトランスジェニックマウスに作成した。このマウスはヒトナルコレプシーの病態モデルとして最適であり、病態および治療法の研究に寄与するものと考えられる¹⁰⁾。

投射様式から考察すると、オレキシン神経系は覚醒時に LDT からの活性化を受けて、青

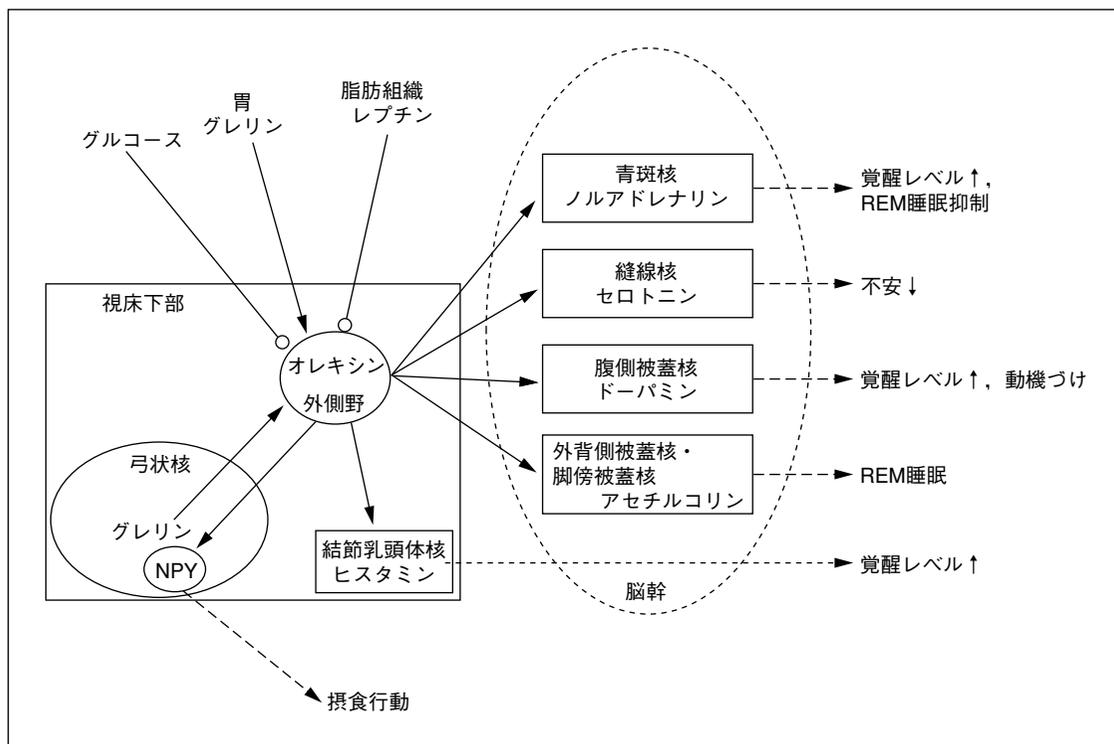


図3 オレキシン神経の機能を入力系と出力系を中心に模式的に表したもののエネルギー収支に関する液性情報を得て、モノアミン系など情動や覚醒に影響を与える系に出力している。モノアミン系からは、逆にオレキシン神経への入力系もあり、ネガティブフィードバックの系を構成していると考えられる。オレキシン神経には、サーカディアン・リズムの出力系や、その他の系からの神経性入力があると考えられるが未知の部分が多い。

斑核や結節乳頭体のモノアミン作動性神経を活性化して、覚醒・睡眠状態を制御するものと考えられる。オレキシン神経の脱落により、モノアミン系神経細胞による覚醒の維持機構が失われると、ナルコレプシーの症状が出現するものと思われる。

5. オレキシン系と摂食行動

オレキシン神経は視床下部内で弓状核に密に投射しており、その中でも特に内側部のNPY作動性神経に投射している。オレキシンをラットに脳室内投与した際の摂食量の亢進は、NPYの拮抗薬によってほぼ1/2に低下することから、オレキシンの摂食亢進作用の一

部はNPYを介していると考えられる。オレキシンは腹内側核にも密に投射しており、糖受容ニューロンの抑制など他のメカニズムによっても摂食量を亢進させると考えられる。

6. オレキシン神経の生理的役割：エネルギーバランスに応じた適応行動の制御

絶食時に自発運動量、覚醒レベルが上昇することは以前から報告されている。絶食時、つまり、エネルギーバランスが負のときには食物を探索する必要があり、そのためには覚醒を維持し、不安を低減し、モチベーションを高める必要がある。オレキシン神経系は、

エネルギーバランスが負に傾いたときに活性化され、ドーパミン系、セロトニン系、ノルアドレナリン系などを活性化することにより、動機づけ、抗不安、覚醒維持に関与し、こうした食物探索行動を支える働きをもっていると考えられる。

われわれは、オレキシン神経除去マウスを用いて、このマウスでは絶食時の探索行動量の増加、覚醒レベルの上昇が起こらないことを見いだしている⁶⁾。オレキシン神経は、レプチンや血糖値によって抑制されていることから、生体の栄養状態をモニターしつつ、覚醒レベルや、情動を制御し、適切な適応行動を引き起こす機能を持っていると思われる(図3)。それと同時に視床下部では、NPY作動性神経などを介して摂食行動を促進する。これらの機構は、野生動物のエネルギー恒常性の維持には必要であるが、肥満患者の減量治療の際には治療抵抗性に働くと考えられる。実際にOX1受容体の拮抗薬が摂食量を低下させ、肥満を改善する作用があることが示されている。

このように、オレキシンは全身の代謝状態に応じて覚醒レベルや情動を変化させることにより、食物の探索を支え、摂食を引き起こす機能をもっており、肥満や摂食障害の病態生理にもかかわっていると考えられる。

[文献]

- 1) Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, *et al* : Orexins and orexin receptors : A family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 1998 ; 92 : 573—585.
- 2) de Lecea L, Kilduff TS, Peyron C, *et al* : The hypocretins : hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 ; 95 : 322—327.
- 3) Nambu T, Sakurai T, Mizukami K, *et al* : Distribution of orexin neurons in the adult rat brain. *Brain Res* 1999 ; 827 : 243—260.
- 4) Marcus JN, Aschkenasi CJ, Lee CE, *et al* : Differential expression of orexin receptors 1 and 2 in the rat brain.

J Comp Neurol 2001 ; 435 : 6—25.

- 5) Yamanaka A, Muraki Y, Tsujino N, *et al* : Regulation of Orexin Neurons by the Monoaminergic and Cholinergic Systems. *Biochem Biophys Res Commun* 2003 ; 303 : 120—129.
- 6) Yamanaka A, Beuckmann CT, Willie JT, *et al* : Hypothalamic Orexin Neurons Regulate Arousal According to Energy Balance in Mice. *Neuron* 2003 ; 38 : 701—713.
- 7) Lin L, Faraco J, Li R, *et al* : The sleep disorder canine narcolepsy is caused by a mutation in the hypocretin (orexin) receptor 2 gene. *Cell* 1999 ; 98 : 365—376.
- 8) Chemelli RM, Willie JT, Sinton CM, *et al* : Narcolepsy in orexin knockout mice : molecular genetics of sleep regulation. *Cell* 1999 ; 98 : 437—451.
- 9) Peyron C, Faraco J, Rogers W, *et al* : A mutation in a case of early onset narcolepsy and a generalized absence of hypocretin peptides in human narcoleptic brains. *Nat Med* 2000 ; 9 : 991—997.
- 10) Hara J, Beuckmann CT, Nambu T, *et al* : Genetic ablation of orexin neurons in mice results in narcolepsy, hypophagia, and obesity. *Neuron* 2001 ; 30 : 345—354.

質 疑 応 答

座長(中尾) ありがとうございます。ご質問、コメントをお願いします。

松澤佑次(住友病院) 非常におもしろい話をありがとうございます。オレキシンが食欲を出させるためのホルモンだということで、われわれもそこに関心を持ってさまざまなことを聞こうと思っているうちに、話が睡眠のほうへ行行って、それがあまりにもおもしろくなってしまいました。

最初のビデオで寝ているところが見つかったノックアウトのネズミは、僕は不勉強で実際の食行動や体重がどうなっているか知らないでいままで来てしまって、眠りのことばかり考えていたのですが、実際にはやせていくのですか。

桜井 ジェネティックバックグラウンドによって違いますが、リガンドノックアウト、

あるいはニューロンを壊したマウスは太る傾向にあります。摂食量は下がっていますが、それ以上に活動量が減少してあまり動かなくなります。特に夜間の運動量は半分程度になってしまって、それが前面に出てきます。BL6 はほとんど体重は変わりませんが、摂食量は下がっています。DBA1 のバックグラウンドが入ると、摂食量はかなり下がりますが、逆に太ってきます。

松澤 そうすると抗体の薬などは、太った人がますます怠け者になって太ってくるということはないですか。

桜井 レセプターが二つありますが、一つのレセプターをブロックすると体重は下がります。それはわれわれのデータではないので、いまレセプターノックアウトでその検討を進めようと思っています。とにかく両方のシグナルパスウェイをブロックすると摂食量は下がりますが、長期的には太ってくるという非常に複雑な結果です。

松澤 最初に柳沢正史先生(テキサス大)が発表されたとき、冬眠との関連を聞いたこともあります。食べ物を探しに行かなくなって寝てばかりいるのは、オレキシンのニューロンか何かが作用しているのではないかとかがったのですが、それについては何か検討されたり、動物学者がそのようなことを行われたりすることはないのでしょうか。

桜井 それはないと思います。ナルコレプシーの人は眠気が症状としてメジャーなので過眠症というとらえ方をされますが、睡眠時間自体は全然変わってなくて、頻繁に寝たり起きたりします。

松澤 食べ物を探しに行かなくなってしまうのでしょうか。冬眠は基本的には食べ物を探しに行かない状態だと思います。

桜井 冬眠に関してはまだ誰も検討していないと思います。

門脇 孝(東京大) 質問ではなくてコメン

ト、感想です。糖尿病の患者さんに食事療法を指導するとき、われわれは先輩の大先生方から患者さんに腹八分目と言うようにと教えられています。私がそれを患者さんに言ったところ、「腹八分目というのはどういう状態ですか」と聞かれて、答えに窮したことがあります。そこで糖尿病の大先生から教えていただいたのは、夕食を食べて、すぐにぐっすり眠れるのが腹十分目で、お腹が空いて寝つけないくらいが腹六分目以下、ちょっとお腹が空いて寝つけないけれども何とか眠れるくらいが腹八分目だと患者さんに教えなさいということでした。その大先生が言ったことが、オレキシンの活性化を少し起こすくらいの状態が腹八分目だということで、オレキシンを通じて結びついたのは非常に感銘深い話だと思いました。

座長 ナルコレプシーにおいては、オレキシンのないために十分に食事が取れない。イヌはやせているように見えたが、患者群ではいかがでしょうか。

桜井 患者のエネルギーホメオスタシスの面からのペーパーはそれほどたくさん出ていませんが、一応コンセンサスとしては太っている、それにもかかわらずエネルギー摂取は減っているということで、マウスとだいたい同じ結果だと思います。

吉松博信(大分大) ノックアウトマウスのエネルギー消費、UCP1 の発現はいかがですか。

桜井 まだ検討していません。

吉松 ご存じのようにオレキシンはヒスタミンをかなり牛耳って、ヒスタミンも覚醒調節機能を有しています。H₁ 欠損マウスというヒスタミンが効かない状態のマウスは、すぐは太らないのですが、加齢とともにだんだん太ってきます。しかし覚醒調節機能が障害されているので、最初に認められるのはリズム障害です。最初にリズムが壊れることが太っ

てくることに関係しているのではないかと考えられるわけです。そのとき UCP1 機能はだいたい落ちています。肥満モデル動物を確かめるとほとんどリズム障害がありますので、先生のモデル動物も本来はやせるべきであるのに太ってしまうのはリズム障害から来ているのではないのでしょうか。

桜井 一つは行動量が減っていることと、血圧を測ってみるとノックアウトの場合 5 mmHg くらい低い。それはおそらく交感神経系のトーンスが落ちてしまっているからです。そこから考えると基礎代謝、おそらく UCP1 など下がっていると思います。

船橋 徹(大阪大) ナルコレプシーの原因としてオレキシンが非常に大事であるということをごここまで突き止められましたが、あれは自己免疫的なかたちか、特発的に起こるわ

けですね。それを凌駕して治療に結びつけられる方法論は何かありますか。

桜井 一つは低分子量のアゴニストの経口薬ができれば、根治に近いかたちで治療ができると思いますが、いまのところありません。われわれができる検討としては、薬理学的に頭の中に直接オレキシンを投与するか、遺伝子治療的にウイルスベクターを使って、他の細胞がつくるようなかたちで補ってあげると、副作用は問題だと思いますが、ナルコレプシーに関しては完全に治療できます。外因的にオレキシンを投与することによってナルコレプシーを治療することはいま検討しているところですが、ナルコレプシーフェノタイプは完全になくなります。

座長 どうもありがとうございました。