

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20590226

研究課題名(和文) 体温調節におけるオレキシン含有神経の役割

研究課題名(英文) Role of the orexin neurons in body temperature regulation

研究代表者

桑木 共之 (KUWAKI TOMOYUKI)

鹿児島大学・医歯学総合研究科・教授

研究者番号：80205260

研究成果の概要(和文)：脳神経伝達物質のオレキシンを含有するニューロンの体温調節における役割を遺伝子改変マウスを用いて検討した。オレキシン含有ニューロンは基礎体温維持への関与は薄かったが、ストレス時の体温上昇には不可欠であることが明らかになった。意外にも、体温調節に関して主要な神経伝達物質はオレキシンではなく、ニューロン内に共存するその他の神経伝達物質であることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Possible role of orexin (hypocretin), a hypothalamic neuropeptide, in body temperature regulation was investigated using genetically engineered mice. Orexin containing neurons are indispensable for stress-induced thermogenesis although they minimally contribute to basal body temperature. Surprisingly, not orexin but co-transmitters contained in the orexin neurons are important for stress-induced thermogenesis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度			
2007年度			
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：生理学

科研費の分科・細目：基礎医学・環境生理学

キーワード：(1)オレキシン (2)視床下部 (3)体温調節 (4)ストレス

## 1. 研究開始当初の背景

体温を一定範囲内に維持する事は我々恒温動物の生存にとって必要不可欠である。視床下部が体温調節において重要な役割を果たしている事は比較的古くから知られていたが、その神経回路の概要が明らかになったのはごく最近の事で、中でも視床下部背内側核が低温防御に重要であることが明らかとなった (EE. Benarroch: Thermoregulation: Recent concepts and remaining questions. *Neurology* 69: 1293-1297, 2007)。しかし、そこで使用されている神経伝達物質や調節機能の詳細には未だに不明な点が多い。

いっぽう、生体が危険などのストレスにさらされた時の闘争または逃走反応-いわゆる防衛反応-にも視床下部背内側核が不可欠の役割を果たしている。研究代表者らは、視床下部背内側核および脳弓周囲領域に存在するオレキシン含有ニューロンが防衛反応表出の遠心機構に関与しているのではないかという仮説を立て、これまでの研究によって肯定的結論を得た。(W. Zhang, M. Shimoyama, Y. Fukuda, T. Kuwaki: Multiple components of the defense response depend on orexin: Evidence from orexin knockout mice and orexin neuron-ablated mice. *Autonom Neurosci* 126-127: 139-145, 2006.)。しかし、オレキシン含有ニューロンの役割は循環・呼吸反応に限定されるのか、あるいは体温調節にも関与しているかどうかについてはほとんど研究がなされていなかった。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、1) 視床下部背内側核に存在するオレキシン含有ニューロンが体温調節にも関与しているか否かを明らかにし、2) 関与しているならばどの様に役立っているのか(体温上昇 or 下降?、安静時の体温維持かストレスや寒冷などの刺激を受けたときのみなのか?)を明らかにする事であった。さらに、3) オレキシンが重要なのか、あるいはオレキシンニューロンに含有されるオレキシン以外の神経伝達物質候補(ガラニン、ダイノルフィン、グルタミン酸)が重要なのか、についても検討した。

## 3. 研究の方法

### (1) 材料

オレキシン欠損マウス、オレキシン含有ニューロン特異的破壊マウス、ならびにそれらの対照マウスを用いた。

### (2) 生理学的実験

3種類のストレス刺激、すなわち1) 直腸への体温計挿入操作による handling ストレス、2) 低温または高温環境への暴露、3) 発熱物質投与、を与え、その前後での体温・褐色脂肪組織温度を計測した。実験2・3ではテレメトリー装置を埋め込んだマウスを用い、また実験3では無麻酔脳室内投与と麻酔下脳内局所投与の双方を実施した。

### (3) 薬理学的実験

ストレス時の体温上昇のメカニズムを検討するために、褐色脂肪組織を支配する交感神経の受容体である $\beta 3$ アドレナリン受容体阻害薬および皮膚血管を支配する交感神経の受容体である $\alpha 1$ アドレナリン受容体阻害薬がストレス誘発発熱に及ぼす影響を検討した。

また、 $\beta 3$ アドレナリン受容体刺激薬の投与による褐色脂肪組織温度の変化を3種類のマウスで比較した

### (4) 生化学的実験

褐色脂肪組織における発熱の主要原因物質である uncoupling protein-1 (UCP-1) の mRNA 量を real time PCR 法で定量した。

### (5) 解剖学的実験

オレキシン含有ニューロンがストレスで活性化されることを示すために、神経細胞活性化のマーカーとして広く用いられている最初期遺伝子産物 c-Fos の局在とオレキシン陽性細胞の局在を二重免疫組織化学法を用いて検討した。

## 4. 研究成果

### (1) 結果の概要

刺激前体温には3種類のマウス間で差がなかったため、オレキシンは基礎体温の維持には関与していないと考えられた。高温暴露でも3群間に体温の差は見られなかったが、handling ストレス・発熱物質投与では、オレキシン含有ニューロン特異的破壊マウスにおいて体温上昇反応が減弱していた。低温暴露では発熱による体温維持が出来なかった。いずれの刺激でもオレキシン欠損マウスの反応は正常であった。

対照マウスにおける handling ストレス時の体温上昇の主要原因は、皮膚血管の収縮による熱放散の減少ではなく、褐色脂肪組織による熱産生であった。実際、対照マウスとオレキシン欠損マウスでは、ストレスによって褐色脂肪組織の UCP-1 が約2倍に増加した。オレキシン含有ニューロン特異的破壊マウスでは UCP-1 増加反応も消失しており、体温上

昇の減弱と良く一致した結果であった。

いっぽう、褐色脂肪組織を直接β3アドレナリン受容体刺激薬で活性化させた時の熱産生はオレキシン含有ニューロン特異的破壊マウスでも正常だったので、このマウスにおけるストレス誘発体温上昇の欠落の原因は、効果器の異常ではなく中枢神経による制御の異常であると考えられた。

解剖学的にオレキシン神経細胞の活性化を調べる実験では、対照マウスとオレキシン欠損マウスにおいて handling ストレスによる活性化が確認された。

以上の結果から、オレキシン含有ニューロンはストレス・炎症発熱・低温暴露時の体温上昇・維持に不可欠だが、そこでの主要な伝達物質はオレキシン以外の共存神経伝達物質候補（グルタミン酸など）であると結論された。

## (2) 意義と展望

本成果は、オレキシン含有神経細胞にオレキシン以外にも共存神経伝達物質が存在することの生理的意義を解明した世界初のものである。

ストレス防衛反応とは、体温上昇以外にも血圧・心拍数・呼吸数の増加、覚醒度の上昇、痛覚の抑制など様々な変化を含む多面的反応の総称である。体温上昇以外の反応にはオレキシン自体が不可欠であることを既に証明したので、今回の結果と合わせて考えると、オレキシンと共存伝達物質とが協働して全体として正常なストレス防衛反応の発現を担っていると考えられた。

今後は、複数存在する共存神経伝達物質候補（グルタミン酸、ガラニン、ダイノルフィン、一酸化窒素など）の内のどれが体温調節に重要かを検討していく予定である。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計22件)

- ① Kuwaki T: Orexin links emotional stress to autonomic functions. *Autonom Neurosci: Basic Clin* (in press). 査読有
- ② Zhang W, Sunanaga J, Takahashi Y, Mori T, Sakurai T, Kanmura Y, Kuwaki T: Orexin neurons are indispensable for stress-induced thermogenesis in mice. *J Physiol* 588: 4117-4129, 2010. 査読有
- ③ Kuwaki T, Zhang W: Orexin neurons as arousal-associated modulators of central cardiorespiratory regulation. *Resp Physiol Neurobiol* 174: 43-54 2010. 査読有

- ④ Kuwaki T, Li A, Nattie E: State-dependent central chemoreception: A role of orexin. *Resp Physiol Neurobiol* 173: 223-229, 2010. 査読有
- ⑤ Kuwaki T: Hypothalamic modulation of breathing. *Adv Exp Med Biol* 669: 243-247, 2010. 査読有
- ⑥ Mori T, Ito S, Kuwaki T, Yanagisawa M, Sawaguchi T: Monoaminergic neuronal changes in orexin deficient mice. *Neuropharmacology* 58: 826-832, 2010. 査読有
- ⑦ 桑木共之: 神経性循環制御: an update. *循環制御* 30: 142-148, 2010. 査読無
- ⑧ 桑木共之: 視床下部による自律系の統合調節: オレキシンの役割. *自律神経* 47: 236-243, 2010. 査読無
- ⑨ Toyama S, Sakurai T, Tatsumi K, Kuwaki T: Attenuated phrenic long-term facilitation in orexin neuron-ablated mice. *Resp Physiol Neurobiol* 168: 295-302, 2009. 査読有
- ⑩ Sunanaga J, Deng BS, Zhang W, Kanmura Y, Kuwaki T: CO<sub>2</sub> activates orexin-containing neurons in mice. *Resp Physiol Neurobiol* 166: 184-186, 2009. 査読有
- ⑪ Zhang W, Zhang N, Sakurai T, Kuwaki T: Orexin neurons in the hypothalamus mediate cardiorespiratory responses induced by disinhibition of the amygdala and bed nucleus of the stria terminalis. *Brain Res* 1262: 25-37, 2009. 査読有
- ⑫ 桑木共之: 視床下部による自律機能の調節におけるオレキシンの役割 *生体の科学* 60: 474-475, 2009. 査読無
- ⑬ Kuwaki T: Orexinergic modulation of breathing across vigilance states. *Resp Physiol Neurobiol* 164: 204-212, 2008. 査読有
- ⑭ Kuwaki T, Zhang W, Nakamura A, Deng BS: Emotional and state-dependent modification of cardiorespiratory function: role of orexinergic neurons. *Autonom Neurosci: Basic Clin* 142: 11-16, 2008. 査読有

[学会発表] (計45件)

- ① Sunanaga J, Zhang W, Takahashi Y, Mori T, Sakurai T, Kanmura Y, Kuwaki T: Stress-induced thermogenesis depends on orexin neurons. 9th Japan-Korea Joint Symposium on Brain Sciences, and Cardiac and Smooth Muscles, 2010/11/25, Kagoshima. (Symposiast)
- ② Kuwaki T: Orexin: A possible link between behavior and autonomic functions. The NeuroPhysiome: Bridging computational neuroscience and systems biology. US-JAPAN Brain Research Cooperative Program Workshop, 2010/10/5, Okinawa. (Invited)

Symposiast)

- ③Sunanaga J, Takahashi Y, Kanmura Y, Kuwaki T: Stress-induced hyperthermia is mediated by orexin neurons. American Society of Anesthesiologists Annual Meeting, 2010/10/16, San Diego USA.
- ④Takahashi Y, Sunanaga J, Kanmura Y, Kuwaki T: Orexin neurons mediate prostaglandin E2-induced fever American Society of Anesthesiologists Annual Meeting, 2010/10/16, San Diego USA.
- ⑤桑木共之：視床下部オレキシン神経：自律系と体性系との接点。第8回交感神経とアンジオテンシンII研究会 2010/8/7 福岡（招待講演）
- ⑥砂永仁子、高橋佳子、張薇、桜井武、上村裕一、桑木共之：ストレス時の発熱はオレキシン含有ニューロンを介する。日本麻酔科学会第57回学術集会 2010/6/3 福岡（優秀演題）
- ⑦高橋佳子、砂永仁子、張薇、桜井武、上村裕一、桑木共之：プロスタグランジンE2による発熱はオレキシン含有ニューロンを介する。日本麻酔科学会第57回学術集会 2010/6/3 福岡（優秀演題）
- ⑧桑木共之：自律機能の中樞神経による調節。第87回日本生理学会大会 2010/5/20 盛岡（シンポジウム招待講演）
- ⑨ Kuwaki T: Orexin and the Control of Breathing: Lessons from orexin knockout mice. Experimental Biology Meeting, 2010/4/25, Anaheim USA. (Chair & Lecture in a Symposium)
- ⑩桑木共之：視床下部による自律系の統合調節：オレキシンの役割。第62回日本自律神経学会総会 2009/11/5 和歌山（シンポジウム招待講演）
- ⑪桑木共之：睡眠と呼吸調節の脳内メカニズム：遺伝子工学を利用した最新の研究から。東洋大学第2回理工学シンポジウム—脳科学と工学の融合—脳不思議を見るテクノロジーへ 2009/10/31 埼玉（特別招待講演）
- ⑫Kuwaki T, Sunanaga J, Zhang W, Sakurai T: Lack of stress-induced hyperthermia in orexin neuron-ablated mice. Neuroscience Annual Meeting, 2009/10/17, Chicago USA.
- ⑬Kuwaki T, Zhang W, Sunanaga J, Sakurai T: Orexinergic modulation of the autonomic activity during emotional stress. ISAN2009 Symposium. Linking emotional stress to autonomic functions, 2009/9/4, Sydney Australia. (Invited Symposiast)
- ⑭Kuwaki T: Hypothalamic control of breathing. 36th Congress of the International Union of the Physiological Sciences, 2009/7/27, Kyoto. (Chair & Lecture in a Symposium)
- ⑮ Kuwaki T: Hypothalamic modulation of breathing. 11th Oxford Conference on Modeling and Control of breathing, 2009/7/23, Nara. (Chair & Lecture in a Symposium)
- ⑯桑木共之：神経性循環制御：an update. 日本循環制御医学会総会 2009/6/12 鹿児島（シンポジウム招待講演）
- ⑰ Kuwaki T, Zhang W, Sakurai T: Lack of handling stress-induced hyperthermia in orexin neuron-ablated mice. Experimental Biology Meeting, 2009/4/18, New Orleans USA.
- ⑱ Kuwaki T, Zhang W: Orexin-containing neuron contributes stress-induced thermogenesis. 8th Japan-Korea Joint Symposium on Physiology, 2009/01/15, 釜山韓国. (Invited Symposiast)
- ⑲桑木共之：情動・行動に伴う自律制御のリセッティング。第3回SICE生物制御システム調査研究会 2008/6/12 東京（特別招待講演）

〔図書〕（計2件）

- ①Kuwaki T, Zhang W: Autonomic malfunctions in mice model of narcolepsy. In *Narcolepsy: Symptoms, Causes and Diagnosis and Treatment* (Eds: Guillermo Santos & Lautar Villalba) Nova Science Publishers, NY. 2010, pp.1-33. (147 pages)
- ②桑木共之：呼吸器系と睡眠。In *睡眠学* 日本睡眠学会（編）朝倉書店。東京 2009, pp.131-135. (752 pages)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.kufm.kagoshima-u.ac.jp/~physiol1/Research.html>

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

桑木 共之 (KUWAKI TOMOYUKI)  
鹿児島大学・医歯学総合研究科・教授  
研究者番号：80205260

### (2)研究分担者

該当なし

### (3)連携研究者

該当なし

### (4)研究協力者

張 薇 (ZHANG WEI)  
千葉大学・医学研究院・特任研究員  
砂永 仁子 (SUNANAGA JINKO)  
鹿児島大学・医歯学総合研究科・大学院生  
高橋 佳子 (TAKAHASHI YOSHIKO)  
鹿児島大学・医歯学総合研究科・大学院生