

氏名(本籍)	一瀬 真澄(長崎県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博士第505号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成17年3月25日
学位論文題目	The hypothalamic arcuate nucleus: A key site for mediating leptin's effects on glucose homeostasis and locomotor activity (視床下部弓状核: グルコースの恒常性と自発運動におけるレプチン効果の重要な調節部位)
審査委員	主査 教授 木村 宏 副査 教授 野坂 修一 副査 教授 工藤 基

論文内容要旨

※整理番号	509	(ふりがな) 氏名	いちのせ ますみ 一瀬 真澄
学位論文題目	<p>The hypothalamic arcuate nucleus: A key site for mediating leptin's effects on glucose homeostasis and locomotor activity (視床下部弓状核：グルコースの恒常性と自発運動におけるレプチン効果の重要な調節部位)</p>		
<p>〔背景と目的〕 レプチンは肥満細胞から分泌されるホルモンで、体内のエネルギーバランスを脳に伝えている。レプチン欠損 (obob) マウスやレプチンレセプター欠損 (dbdb) マウスは肥満、糖尿病、不妊、自発運動の抑制が起こる。さらにレプチンレセプターは脳の視床下部において発現しており、レプチンで抑制される NPY/AGRP 神経、反対に活性化される CART/POMC 神経とともに視床下部弓状核にみられ、レプチンの重要な作用部位のひとつとされてきた。また、レプチン作用とグルコースの恒常性に関して様々な報告が見られたが、レプチンが直接、間接的に作用するかどうかは明らかでなかった。そこで我々は、視床下部弓状核のレプチンシグナルの肥満、糖尿病、不妊、自発運動の抑制との関わりを調べるために、レプチンレセプターの発現が欠損し、かつ内在性のレプチンレセプターのプロモーターを調節できるマウスを用いてレプチンレセプターを再発現させた。</p> <p>〔方法〕 レプチン遺伝子中に neo カセット、frr 部位を持った、レプチンレセプター欠損マウスモデルを用いた。4 週令のマウスの視床下部弓状核の片側に、頭部定位固定装置を用いて FLPe リコンビナーゼを組み込んだアデノ随伴ウイルス(AAV)を注入した。手術後 2 ヶ月間体重と食餌量、血糖値等を測定し、続いて身体組成、自発運動と酸素消費量の測定、交配試験を行った。その後レプチン投与後にマウスの脳を取り出し、AAV の注入部位を免疫組織学的に確認した。またレプチンレセプターの再発現による下流シグナル STAT3 のリン酸化発現部位も確認した。視床下部内の神経核における免疫組織化学反応陽性細胞の数によって、弓状核ヒット群ミス群に分類し、両群を比較検討した。</p> <p>〔結果〕 AAV を視床下部弓状核の片側に注入したヒット群では FLPe リコンビナーゼが導入され、レプチンレセプターが回復し STAT3 のリン酸化が確認された。レプチンレセプターを視床下部弓状核に特異的に回復させたヒット群では、2 ヶ月間で有意な体重減少が見られ、総脂肪量、食餌量の減少も見られた。また血漿中インスリン値は 8 週令 12 週令とも有意な減少が見られ、血糖値は 8 週令では有意差はなかったが 12 週令で正常値まで改善した。自発運動はヒット群で著明な改善が見られ、ほぼ野生型と同じレベルであった。この運動量の改善は主に夜間 (活動期) のもの</p>			

だった。交配試験では両群とも妊娠は確認されなかった。AAV 注入による直接作用の確認のために、FLPe リコンビナーゼで再発現しないレプチンレセプター欠損マウスを用いてコントロール実験をした。弓状核ヒット群ミス群の間で体重変化、血漿インスリン値、血糖値の違いは見られなかった。また STAT3 のリン酸化も確認されなかった。

〔考察〕レプチンレセプターを視床下部弓状核の片側に回復させることによって、様々な表現型の改善が見られた。視床下部の神経核破壊実験によると片側の破壊のみでは肥満は起こらないことから、今回の回復実験では片側のみで十分と考えられた。ヒット群の体重改善は緩やかで野性型と比べるとミス群からの改善率は 2 割だった。血漿中のインスリン値は 8 週令 12 週令ともヒット群が改善していたが、同レベルであった。血糖値は 8 週令では両群間の有意差はなく 12 週令でヒット群が正常化していた。体重減少は 7 週令から始まり 12 週令まで続くが変化は穏やかで、血糖値の正常化は体重変化だけでは説明できない。つまり 12 週令においてインスリンレベルの変化がないにもかかわらずその作用は大きく改善し、弓状核のレプチンシグナルのインスリン・グルコースの恒常性への直接的な関与が示唆された。また obob マウスの自発運動はレプチン投与により正常化されることが分かっていたが、今回レプチンシグナルのうち弓状核のシグナルが自発運動に関して十分な役割を果たしていることが示唆された。弓状核ヒット群ミス群のほかに我々は視床下部のレプチンレセプターを持つ 2 つの核、視床下部外側野+腹内側核ヒット群を比較した。この群は弓状核ミス群と比べて体重減少は有意であったが、血糖値、自発運動は有意に回復しなかった。このことによって弓状核が他の部位と違いグルコースの恒常性、自発運動の調節に深く関わっていることが示唆された。

〔結語〕脳内のレプチンシグナルは従来よりエネルギーバランスの重要な役割を果たしていると考えられていた。今回弓状核がその調節において重要な部位であることが示唆され、さらに、グルコースの恒常性と自発運動の調節に十分な役割を果たしていることが示唆された。

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	509	氏名	一瀬 真澄
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>レプチンは脂肪組織から分泌されるホルモンで、視床下部に分布するリセプターを介して、身体のエネルギーバランスを調節している。本研究では、視床下部の弓状核に作用するレプチンが、どのように肥満、糖尿病、自発運動に関わるかを調べるため、レプチンレセプターを欠損し、かつ内在性プロモーター調節によりレプチンレセプターを再発現できるマウスを用いて解析した。</p> <p>その結果、弓状核レプチンレセプターの再発現により、比較的穏やかな体重減少と血漿インスリンの低下、血糖値と自発運動の正常化が見られた。したがって、視床下部弓状核がグルコースの恒常性、自発運動の調節に重要な部位であることが示唆された。</p> <p>本研究は、肥満研究の進展ならびに糖尿病治療法の開発に貢献すると考えられ、博士(医学)の学位授与に値するものと認められた。</p>			
(平成17年2月4日)			