

氏 名 戸田 知得

学位（専攻分野） 博士（学術）

学位記番号 総研大 1298 号

学位授与の日付 平成 21 年 9 月 30 日

学位授与の要件 生命科学研究科 生理科学専攻
学位規則第 6 条第 1 項該当

学位論文題目 Distinct effects of leptin and melanocortin agonist in
medial hypothalamic nuclei on glucose uptake in
peripheral tissues

論文審査委員 主 査 教授 鍋倉 淳一
教授 富永 真琴
教授 矢田 俊彦(自治医科大学)
教授 箕越 靖彦

論文内容の要旨

レプチンは脂肪細胞より分泌される抗肥満ホルモンである。レプチンを投与すると摂食量が減少し、エネルギー消費が増加することによって体重が減少する。レプチンによる抗肥満作用の大部分は、視床下部のレプチン受容体を介することが知られている。また、最近の研究により、レプチンの摂食抑制作用は、脳内のメラノコルチン受容体 (MCR) を介することも明らかとなった。MCR は、視床下部弓状核 (ARC) に存在する pro-opiomelanocortin (POMC) ニューロンから放出される α -melanocyte-stimulating hormone (α -MSH) によって活性化され、逆に ARC に存在する agouti-related peptide (AgRP) 発現ニューロンによって抑制される。レプチンは POMC ニューロンを活性化すると同時に、AgRP ニューロンを抑制することで MCR を活性化して、抗肥満作用を引き起こす。

最近の研究により、レプチンは、抗肥満作用とは独立に、糖、脂質代謝を強く調節し、抗糖尿病作用を持つことが明らかとなった。例えば、レプチン欠乏状態にある脂肪萎縮症の症例にレプチンを投与すると、糖尿病や高脂血症が解消されるなどの劇的な治療効果がある。これまでの研究で、レプチンを内側視床下部に投与すると、骨格筋、褐色脂肪 (BAT) および心臓において選択的にグルコースの取り込みが増加することが分かっている (Minokoshi Y, et al. Diabetes 48:287, 1999)。しかし、レプチンによる糖代謝調節作用において視床下部のどの神経核が重要であるか、また脳内 MCR が関与するか否かは不明である。本研究の目的は、レプチンによる末梢組織での糖代謝調節作用、特に糖取り込み促進作用において、視床下部のどの神経核が重要であるかを、マウスを用いて明らかにすることである。さらに、脳内 MCR がレプチンによる糖取り込み促進作用にどのような調節作用を営むかを調べた。

レプチンを内側視床下部に投与したことによるグルコースの取り込み促進作用は交感神経節遮断薬や神経切除によって抑制される (Haque MS, et al. Diabetes 48:1706, 1999)。そこで、内側視床下部の中でレプチン受容体を高発現し、且つ交感神経の活動調節に関与する 4 つの神経核、腹内側核 (VMH)、背内側核 (DMH)、室傍核 (PVH) および ARC に、レプチンを選択的に投与して末梢組織でのグルコースの取り込みを測定した。グルコースの取り込みは 2-[3 H]deoxy-D-glucose (2DG) 法を用いて測定した。レプチン投与の成否は、レプチンを投与後、それぞれの神経核を採取し、レプチンの細胞内シグナル分子の一つである signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) のリン酸化をウェスタンブロット法で検出することにより確認した。

レプチンをマウスの VMH に投与すると、骨格筋、BAT および心臓において 2DG の取り込みが増加した。レプチンを ARC に投与すると、BAT においてのみ 2DG の取り込みが増加した。レプチンを DMH や PVH に投与してもグルコースの取り込みは増加しなかった。レプチンをいずれの神経核に投与しても脾臓および白色脂肪において 2DG の取り込みは増加しなかった。これらの結果から、調べた内側視床下部の中で VMH および ARC のレプチン受容体が、末梢組織のグルコースの取り込みを調節することが明らかとなった。また、VMH 及び ARC で、その組織が異なることも明らかとなった。

次に、レプチンを末梢に投与した時の 2DG の取り込み促進作用に、VMH のレプチン受容体がどのような調節作用を営むかを明らかにするため、レプチン中和抗体を両側 VMH に投与した後、レプチンを腹腔内に投与して末梢組織におけるグルコースの取り込みを調べた。レプチンを腹腔内に投与すると、レプチンを VMH に投与した時と同様、骨格筋、BAT および心臓において 2DG の取り込みが増加した。脾臓および白色脂肪では増加しなかった。レプチン中和抗体を VMH に投与すると、レプチンによる上

記組織での 2DG の取り込み増加作用が抑制された。これらの実験結果から、VMH は、レプチンによる末梢組織でのグルコースの取り込みに必須であることが明らかとなった。

次に脳内 MCR が、レプチンによる末梢組織でのグルコースの取り込みにどのような調節作用を及ぼすかを調べた。MCR アンタゴニストである SHU9119 を脳室内に投与すると、レプチンを VMH に投与した時の末梢組織での 2DG の取り込み増加作用は完全に抑制された。さらに、MCR アゴニストである MT-II を脳室内に投与すると、レプチンと同様、骨格筋、BAT および心臓において 2DG の取り込みが増加した。このことから、レプチンによる末梢組織でのグルコースの取り込みは MCR を介することが明らかとなった。

VMH の一部のニューロンを刺激すると、ARC の α -MSH ニューロンが活性化することが示されている (Sternson SM. et al. Nat Neurosci. 8:1356 2005)。また、本研究において、レプチンを VMH に投与すると、VMH だけでなく ARC において c-FOS の発現が増加した。これに対して、STAT3 は、VMH においてのみリン酸化が増加し、ARC では変化しなかった。この実験結果は、レプチンが VMH ニューロンを活性化した後、ARC の α -MSH ニューロンを二次的に活性化し、その結果、末梢組織でのグルコースの取り込みを増加させることを示唆する。

それでは、どの神経核の MCR が末梢組織でのグルコースの取り込みに関与するのであろうか。このことを調べるために、MCR を高発現し、且つ交感神経の活性化に関与する VMH、DMH、PVH および ARC に、各々 MT-II を選択的に投与して末梢組織でのグルコースの取り込みを測定した。MT-II を VMH に投与すると、レプチンと同様に、骨格筋、BAT および心臓において 2DG の取り込みが増加した。これに対して、PVH に投与すると BAT においてのみ 2DG の取り込みが増加した。MT-II を DMH および ARC に投与しても 2DG の取り込みは増加しなかった。

以上の結果から、VMH のレプチン受容体は、レプチンによる骨格筋、BAT および心臓でのグルコース取り込みに関与することが明らかとなった。また、その作用は脳内の MCR を介することが示された。さらに、VMH は MT-II による骨格筋、BAT および心臓のグルコース取り込みにも関与すること、ARC のレプチン受容体および PVH の MCR は褐色脂肪でのグルコースの取り込みに関与することが明らかとなった。以上のことから、内側視床下部の各神経核は、レプチンおよびメラノコルチン受容体作動薬による末梢組織のグルコース取り込み促進作用に異なる調節作用を営むことが、本研究において初めて明らかとなった。

博士論文の審査結果の要旨

脂肪細胞から分泌されるレプチンが糖代謝において重要な役割を営むことが明らかになってきた。さらに近年、レプチンによる摂食・代謝調節作用に、脳内のメラノコルチン (MC) 受容体が調節作用を営むことが報告された。しかし、レプチンによる糖代謝調節にどの視床下部神経核が重要であるか、また、MC 受容体がレプチンによる糖代謝調節にどのような作用を営むかは不明である。そこで申請者は、レプチンによるグルコース取り込み促進作用への視床下部神経核の関与、レプチンによるグルコース取り込み促進作用への視床下部 MC 受容体による調節作用を検討した。

1) レプチンを腹腔内あるいは視床下部腹内側核 (VMH) に投与すると、骨格筋、褐色脂肪および心臓においてグルコースの取り込みが選択的に増加し、レプチン中和抗体を VMH によりその作用は抑制された。以上の結果から、レプチンによるグルコース取り込み促進作用には VMH の調節作用が重要であることが明らかとなった。

2) MC 受容体アゴニスト (MT-II) を脳室内に投与すると、レプチンと同様に骨格筋、褐色脂肪および心臓においてグルコースの取り込みが促進した。また、MC 受容体アンタゴニストを脳室内に投与すると、レプチンを VMH に投与したときのグルコースの取り込み促進作用が抑制された。このことから、レプチンによるグルコース取り込み促進作用に MC 受容体が関与することが明らかとなった。

3) MT-II を VMH に投与すると、骨格筋、褐色脂肪および心臓においてグルコースの取り込みが促進した。また MT-II を室傍核 (PVH) に投与すると褐色脂肪におけるグルコースの取り込みを選択的に促進した。以上の結果から、PVH および VMH の MC 受容体は組織選択的にグルコース取り込みを促進することが明らかとなった。

以上の実験結果から、レプチンは VMH に作用した後、 α -MSH 分泌ニューロンとその受容体である MC 受容体を活性化して末梢組織でのグルコースの取り込みを増加すると考えられる。また、PVH および VMH の MC 受容体が組織選択的にグルコースの取り込みを促進することが明らかとなった。

実験は、視床下部の極限定した核に薬物を注入投与するという極めて高度な技術を用いて行われており、申請者が同技術を忍耐強く確立したことは高く評価できる。この技術を利用して、これまでのレプシンの中枢作用機序および作用部位に関して、これまでの報告にあたらな見知を与えたことは同研究領域に大きな貢献をもたらすものであり、学位論文として十分に価値のあるものと認められる。