

氏 名	吉村 充弘
論文題目 (欧文の場合、和訳を付すこと)	
A role of nesfatin-1/NucB2 in dehydration-induced anorexia (脱水誘発性摂食抑制における nesfatin-1/NucB2 の役割)	
論文要旨	
<p>【目的】 Nesfatin-1/NucB2 は、PPARγアゴニストであるチアゾリジン系薬剤によって活性化される遺伝子群の検索によって発見された新規ペプチド (Oh-I et al., <i>Nature</i>, 2006) であり、強力な摂食抑制作用を有する。Nesfatin-1/NucB2 は脂肪細胞などの末梢組織の他、中枢においては、バズプレッシンを産生する大細胞性神経分泌ニューロンの細胞体が局在する視索上核 (SON) および室傍核 (PVN) を含む視床下部に多く発現している。また、血漿浸透圧などを敏感に感知することができる血液脳関門の欠如した部位として知られる脳弓下器官 (SFO) にも発現している。SFO、SON および PVN は体液量調節および浸透圧調節に重要な神経核であることが知られており、nesfatin-1/NucB2 が摂食抑制のみならず、体液量や浸透圧の調節に何らかの役割を果たしている可能性が考えられた。一方、脱水状態に陥ると摂食は抑制される。これは脱水誘発性摂食抑制と呼ばれ、食事摂取によるさらなる浸透圧上昇を抑えるための生理学的な適応反応と考えられている。本研究では体液量調節、特に脱水誘発性摂食抑制に対する nesfatin-1/NucB2 の視床下部における生理学的意義に着目し、その機能解明を目的とした。</p> <p>【方法】 成熟雄性ウィスター系ラットを用い、(1) SFO、SON および PVN における nesfatin-1/NucB2 を <i>in situ</i> hybridization 法 (ISH 法) を用いて、1) 48 時間摂食制限を行った際の解析をした。2) 48 時間飲水制限および 5 日間 2% 高張食塩水投与を行った際の解析をした。3) 飲水制限 (12、24 および 48 時間) および 48 時間飲水制限後 24 時間再飲水を行った際の解析をした。4) 血中 Na、浸透圧および総タンパク濃度との相関関係を調べた。5) 等張性容量減少モデルであるポリエチレングリコール (PEG) 腹腔内投与 (200 mg/kg 体重) 6 時間後に解析した。(2) 免疫組織化学的染色法を用いて、1) 48 時間飲水制限もしくは 48 時間飲水制限後に 24 時間再飲水を行い、SFO、SON および PVN における nesfatin-1/NucB2 免疫染色性を解析した。2) 48 時間飲水制限後の <i>c-fos</i> 改変緑色蛍光タンパク (<i>c-fos-eGFP</i>) トランスジェニックラットにおける nesfatin-1 と Fos タンパクの局在を、SON および PVN について解析した。(3) 48 時間飲水制限後に、1) nesfatin-1/NucB2 中和抗体 (8μg, 1μg/μL) もしくは、2) nesfatin-1/NucB2 (540pmol, 70pmol/μg) を脳室内投与し、その後の摂食量や飲水量などを測定した。</p> <p>【結果】 (1) SFO、SON および PVN における nesfatin-1/NucB2 は、1) 48 時間の摂食制限後に有意に減少した。2) 48 時間の飲水制限および 2% 高張食塩水負荷によって顕著に増加した。3) 24 および 48 時間飲水制限後に有意に増加し、飲水制限時間依存的であった。また、48 時間飲水制限後の 24 時間再飲水でコントロール群と同程度となった。4) 血中 Na、浸透圧および総タンパク濃度と有意な正の相関を示した。5) PEG 投与後に有意に増加した。(2) Nesfatin-1/NucB2 免疫染色では、1) SFO、SON および PVN において、48 時間飲水制限に nesfatin-1/NucB2 免疫染色性の有意な増加を認め、48 時間飲水制限後の 24 時間再飲水でコントロール群と同程度となった。2) Nesfatin-1/NucB2 免疫染色陽性細胞では神経細胞の興奮マーカーとして汎用されている Fos タンパクも同時に発現していた。(3) 48 時間飲水制限後、すなわち nesfatin-1/NucB2 過剰状態下において、1) nesfatin-1/NucB2 中和抗体の脳室内投与後、飲水量は変化せず、摂食量が顕著に増加した。2) nesfatin-1/NucB2 の脳室内投与後、飲水量は変化せず、摂食量および体重は有意に減少した。</p> <p>【考察】 以上より、中枢における nesfatin-1/NucB2 は飲水制限後の生理的摂食抑制状態を引き起こすのに重要な役割を果たし、摂食抑制物質としてのみならず、体液量および浸透圧の調節因子的役割を担っている可能性が示唆された。</p> <p>【結論】 Nesfatin-1/NucB2 が脱水誘発性摂食抑制に関与していることを明らかにした。</p>	

学位論文審査結果要旨

氏 名	吉村 充弘				
論文審査委員	主査 所属	生体情報 系	生理情報 部門	藤木 通弘	(印)
	副査 所属	生体情報 系	病態情報 部門	鈴木 秀明	(印)
		生体情報 系	病態情報 部門	佐多 竹良	(印)
		系	部門		(印)
		系	部門		(印)
論文題目					
<p>A role of nesfatin-1/NucB2 in dehydration-induced anorexia. (脱水誘発性摂食抑制における nesfatin-1/NucB2 の役割)</p> <p>学位論文審査結果要旨</p> <p>【背景】以前から視床下部に nucleobindin 2 (Nuc2) という分泌性タンパクが存在することが知られていた。2006 年に群馬大学の大井らによって NucB2 の 1-82 アミノ酸残基部分である nesfatin-1 が摂食抑制を示すことが示された。末梢では脂肪細胞および膵臓の β 細胞に、中枢では視索上核 (SON) および室傍核 (PVN) を含む視床下部や脳弓下器官 (SFO) に発現していることが明らかになっている。これらの神経核は体液調節や浸透圧調節に重要であることから、nesfatin-1 がそういった機能になんらかの役割を果たしている可能性が考えられる。脱水状態では食欲が抑えられる現象が「脱水誘発性摂食抑制」として知られているが、本論文は、この働きに nesfatin-1 が関与している可能性について初めて明らかにしようとしたものである。</p> <p>【方法と結果】オス成ラットを用いて、1) 48 時間給餌制限が nesfatin-1 遺伝子発現に及ぼす影響、2) 2% 高張食塩水投与、あるいは 48 時間飲水制限が nesfatin-1 遺伝子発現に及ぼす影響、3) 飲水制限が nesfatin-1 遺伝子発現に及ぼす影響、4) 体液量減少のみによる影響を見るためのポリエチレングリコール (PEG) の腹腔投与が nesfatin-1 遺伝子発現に及ぼす影響、5) 飲水制限が nesfatin-1 タンパク量に及ぼす影響、6) 48 時間飲水制限による浸透圧刺激後の nesfatin-1 中和抗体および nesfatin-1 の脳室内投与 (i.c.v.) が飲水および摂食行動に及ぼす影響、の 6 つの影響について実験を行った。なお、遺伝子発現測定は in situ Hybridization 法を用いて、タンパク量測定は免疫組織化学的染色による半定量法を用いて行った。SON、PVN および SFO における nesfatin-1 遺伝子発現は、1) 48 時間給餌制限で有意に減少し、2) 2% 高張食塩水投与および 48 時間飲水制限によって有意に増加し、3) 飲水制限の時間に比例して有意に増加し、再飲水 24 時間で対照と同程度となった。さらにこのとき各神経核における遺伝子発現は、測定した血液浸透圧、血漿ナトリウム、総蛋白濃度と正の相関を示した。4) 体液量減少負荷によっても有意に増加した。5) 48 時間飲水制限によって nesfatin-1 のタンパク量も各神経核で有意に増加し、再飲水 24 時間後に対照と同程度となった。6) 48 時間飲水制限後の nesfatin-1 中和抗体の脳室内投与は対照と比べて摂食が増加し、nesfatin-1 の投与は投与後 24 時間で対照と比べて摂食量と体重を減少させた。</p> <p>【結論と考察】SON、PVN および SFO における nesfatin-1 遺伝子発現は、飲水制限あるいは高張食塩水負荷による浸透圧刺激によって増加し、体液量のみを低下させる刺激によっても増加した。本実験のその他の結果とも合わせて考えると、浸透圧が高い状態あるいは体液量が減少している際に、食餌性の浸透圧上昇をおさえるために nesfatin-1 が摂食抑制に働いていることが示唆された。</p> <p>【審査結果】本研究は nesfatin-1 が脱水誘発性摂食抑制において重要な役割を果たしていることを明らかにした点において新規性があり、さらにこの知見は肥満対策など臨床医学への応用においてもたいへん重要であると考えられ、本学の学位論文として適格であると判断した。</p>					
平成 27 年 1 月 30 日					