

小松 利光 論文内容の要旨

主 論 文

Effect of leptin on hypothalamic gene expression in calorie-restricted rats
食餌制限ラットの視床下部遺伝子発現におけるレプチンの効果

小松 利光, 千葉 卓哉, 山座 治義, 黨 和夫, 遠山 啓亮, 樋上 賀一, 下川 功

(The Journal of Gerontology: Biological Sciences, 2006 in Press)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
(主任指導教員：下川 功 教授)

【緒言】適度なカロリー制限 (Calorie restriction, CR) は広範囲な動物に抗老化, 寿命延長効果をもたらす実験的介入方法である。老化と CR の進化論的考察では, CR の効果は摂取カロリー低下に対する神経内分泌系及び代謝の適応を介して起こり, その限られたエネルギーを体細胞維持など個体生存に分配すると考えられている。これらのシグナルの同定は CR の効果を模倣する新たな介入方法となる可能性があるが, まだ完全に明らかにはなっていない。今回我々は神経内分泌系とエネルギー代謝の変化を引き起こすシグナルとしてレプチンに着目した。脂肪細胞から分泌されるレプチンは視床下部弓状核を介して摂食とエネルギー消費を制御するホルモンとして知られており, 視床下部弓状核には摂食とエネルギー代謝を拮抗的に支配する二つのレプチン感受性神経細胞集団が存在する。一つは NPY/AGRP 神経細胞群で, 絶食などによって血中レプチンが低下するとレプチンによる抑制が減少し活性化するが, もう一つの POMC/CART 神経細胞群は反対にその活性が低下する。集積した証拠によれば, これらの神経細胞は視床下部の他の神経核中に軸索を延ばしており, 特に, NPY は GnRH 神経細胞と TRH を抑制し, CRH 神経細胞を活性化することが知られている。また, AGRP は, POMC から切断されて活性化した α -MSH と Melanocortin-4 受容体上で拮抗し, TRH 神経細胞を抑制する。これらの報告から, 本研究では CR による脂肪量の低下に伴う血中レプチンの低下が神経内分泌系の変化を引き起こし, 生殖から体細胞の維持へとエネルギーを再配置するシグナルであるとする仮説を提案しその是非を検証した。

【対象と方法】この実験では, CR ラットの視床下部弓状核の神経内分泌遺伝子の発現におけるレプチン脳室内投与の効果を解析した。生後 6 週齢より雄 F344 ラットを自由摂食群 (AL) と CR 群 (AL 摂取カロリーの 70%) に分けて飼育した。34 週齢に達した各群ラットの脳室内に浸透圧ポンプを用いてレプチン (10ng/hour) あるいは溶媒 (PBS) を 14 日間投与した (計 4 群, n= 6-8)。体重及び摂食量を毎日記録し, 屠殺時に組織, 血清及び血漿を採取した。摂食・エネルギー代謝調節に関与するホルモン

に対する CR 及びレプチン投与の影響を評価するため血漿レプチン、インスリン、デスアシル型グレリン及び血清グルコース濃度を測定した。また、弓状核における遺伝子発現量を評価するため、凍結保存した脳組織から弓状核を切り出し、RNA を抽出後 NPY、AGRP、POMC、CART の遺伝子発現をリアルタイム PCR 法で定量した。

【結果】摂食量は AL 群、CR 群ともにレプチン脳室内投与群で有意に減少した。AL-レプチン投与群の体重は有意に減少したが、CR-レプチン投与群は有意な減少を示していない。血中グルコース濃度は CR 群で有意に減少したが、レプチン投与の影響はなかった。インスリン、レプチン濃度は CR 群で有意に減少し、これまでの報告と一致した。また、レプチン投与群で更に減少したが、レプチン濃度は AL-レプチン投与群でより大きな減少を示した。デスアシル型グレリン濃度は CR 群で高濃度を示したが、レプチン投与による影響はなかった。

NPY-mRNA の発現レベルは CR 群で有意に上昇し、CR-レプチン脳室内投与群で有意に減少したが、AL-レプチン脳室内投与群では有意な変化はなかった。AGRP-mRNA の発現レベルも CR 群で有意に上昇し、CR-レプチン脳室内投与群で減少した。POMC-mRNA の発現レベルに変化はなかった。CART-mRNA の発現レベルは CR 群でやや減少し、レプチン脳室内投与群で僅かに上昇した。

【考察】CR ラットにおいて弓状核 NPY、AGRP、CART-mRNA 発現量が有意に変化し、レプチン脳室内投与でこれらの変化は消失した。しかし、POMC-mRNA には CR 及びレプチン脳室内投与による有意な変化はなかった。また、CR 群へのレプチン脳室内投与による摂食量の抑制は、神経内分泌系遺伝子発現の変化と一致している。これらの結果は弓状核へのレプチンシグナル伝達が CR による神経内分泌の変化に関与しているという仮説を支持するものである。しかしながら、レプチンシグナルを欠損したモデル動物への CR はその寿命を延長すると報告されており、CR の効果においてレプチン-弓状核経路が必ずしも必要ではないことが示唆される。血中グレリン濃度の上昇は NPY/AGRP ニューロンを活性化することが知られている。また、中枢神経系特異的にインスリンシグナル伝達を阻害した実験モデルは寿命が延長することが報告されている。我々の実験でも CR 群の血中のデスアシル型グレリン濃度は上昇し、インスリン濃度は減少していることから、CR はグレリンやインスリンなどの複数のシグナル経路を介して視床下部を制御していることを示唆している。