

氏 名	王 磊
学 位 の 種 類	博士（医学）
学 位 記 番 号	甲第 587 号
学位授与年月日	令和 2 年 3 月 16 日
学位授与の要件	自治医科大学学位規定第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	<b>絶食後再摂食による視床下部室傍核オキシトシンニューロンのシナプス可塑性調節と摂食行動連関</b>
論 文 審 査 委 員	(委員長) 教 授 尾 仲 達 史 (委 員) 准教授 海老原 健 准教授 藤 原 研

## 論文内容の要旨

### 1 研究目的

摂食・エネルギー代謝状態により分泌される末梢ホルモンは、視床下部弓状核の摂食亢進性および摂食抑制性ニューロンを介し、視床下部室傍核の摂食抑制性ニューロンの活動を調節し、摂食行動を制御する。近年の研究から、末梢ホルモンは弓状核ニューロンの膜電位、遺伝子発現のみならずシナプス伝達の効率（シナプス可塑性）も調節することで神経活動を制御し、このシナプス可塑性調節は摂食行動に直接反映されることが示された。肥満病態において、弓状核ニューロンではレプチン抵抗性およびインスリン抵抗性が起こり、治療介入の障害となる。一方、室傍核摂食抑制ニューロンはこの抵抗性を示しにくいことが報告され、治療介入の有力な候補と考えられる。所属研究室は、室傍核オキシトシン（Oxt）ニューロンが摂食抑制に重要な役割を担うことを明らかにしてきた。さらに室傍核 Oxt ニューロンのシナプス後部の NMDA 型グルタミン酸受容体は絶食により減少し、興奮性シナプス伝達が減弱することを報告した。

しかし、上記の Oxt ニューロンの NMDA 受容体依存的シナプス伝達の絶食による調節に関して、これを仲介する神経因子はまだ不明である。さらに、このシナプス可塑性変化が摂食行動・エネルギー代謝調節にどのような影響を与えるか、その生理的・病態的役割は不明である。

本研究は室傍核 Oxt ニューロンの NMDA 型受容体依存的シナプス可塑性調節について、(1) 絶食の作用の引き金となる神経因子の同定、(2) その神経因子の受容体・細胞内シグナル伝達系の解明、(3) 再摂食後のシナプス伝達の回復と摂食行動の推移の解析、および、これら二つの因果関係の解明を目的とした。仮説として、絶食条件下で分泌量が変化し、Oxt ニューロンの NMDA 受容体の活性を調節する神経因子の候補として、強力な摂食亢進性神経ペプチド Neuropeptide Y (NPY) を検討した。

### 2 研究方法

#### ① 室傍核 Oxt ニューロンの興奮性シナプス伝達を減弱させる神経因子の同定

オキシトシン RFP ラットから室傍核を含む視床下部スライスを作成し、NPY を添加した後、スライスパッチクランプ法により、興奮性シナプス後電流（EPSC）、NMDA 受容体電流・AMPA 受容体電流を測定し、興奮性シナプス伝達を解析した。さらに、NPY の作用を仲介す

る受容体および細胞内シグナル伝達系について、阻害剤を用いて検討した。

② 室傍核 Oxt ニューロンの興奮性シナプス伝達調節の分子機序の解明

24 時間絶食ののち再摂食させた Oxt RFP ラットから視床下部スライスを作成し、絶食後 1,2,3,4 日後の Oxt ニューロンの NMDA 受容体電流・AMPA 受容体電流を測定し、絶食後再摂食による EPSC の経時的変化を解析した。

③ 絶食後再摂食による Oxt ニューロンのシナプス可塑性の経時的変化

24 時間絶食ののち再摂食させた Oxt RFP ラットから視床下部スライスを作成し、絶食後 1,2,3,4 日後の一日摂食量を測定した。

④ 絶食後再摂食による Oxt ニューロンの EPSC および一日摂食量の経時的変化を解析した。

### 3 研究成果

① 室傍核 Oxt ニューロンを含む急性視床下部スライスへの NPY 添加により、Oxt ニューロンへの mEPSC が減弱した。NPY 添加により AMPAR/NMDAR 比は有意に増加し、NMDA 受容体の減少を伴うことを示唆した。これらの変化は絶食負荷の効果と類似した。

② NPY に対する受容体の 1 つである Y1 受容体の阻害剤の添加は、NPY による mEPSC 減弱を消失させた。また、IBMX 添加により cAMP 増加を誘導すると、NPY による mEPSC 減弱は消失した。

③ 24 時間絶食は、Oxt ニューロン興奮性シナプス伝達を減弱させた。絶食時に、Y1 受容体阻害剤を脳室内および室傍核局所投与すると、絶食による Oxt ニューロン興奮性シナプス伝達の減弱は消失した。

④ 24 時間絶食ののち再摂食させると、1 日摂食量が増加した。絶食時に、Y1 受容体阻害剤を室傍核局所投与すると、絶食による再摂食時の摂食量増加が抑制された。

⑤ 24 時間絶食によるシナプス伝達減弱と再摂食時摂食量増加は、再摂食後 3 日間維持され、3 日目に消失した。

### 4 考察

研究結果より、以下の知見が明らかとなった。

① NPY による室傍核 Oxt ニューロン興奮性シナプス調節について、NPY→室傍核 Oxt ニューロンの Y1 受容体→[細胞内 cAMP 抑制→NMDAR 減少→AMPA 減少]による興奮性シナプス伝達減弱→PVN Oxt ニューロン活動の抑制の機序が解明された。

② 絶食の作用について、絶食→NPY ニューロン活動亢進→室傍核 Oxt ニューロンの Y1 受容体→興奮性シナプス伝達減弱→室傍核 Oxt ニューロン活動の抑制の機序が示唆された。

③ 絶食による Oxt ニューロンシナプス伝達減弱と再摂食後の 1 日摂食量増加は長期間(3 日間)持続した。Oxt ニューロンシナプス伝達減弱は摂食量増加の原因であり、一部結果でもある可能性が示唆された。

④ 絶食により誘導される長期的な Oxt ニューロンシナプス伝達減弱は、食事制限後のリバウンド性過食をもたらす機序の一つである可能性が示唆された。

⑤ NPY の摂食亢進作用の機序のひとつとして、Oxt ニューロンへの興奮性シナプス伝達の減弱を見出した。

## 5 結論

本研究は、NPY が Y1 受容体を介し、室傍核 Oxt ニューロンのシナプス伝達を抑制することを明らかにした。さらに、絶食条件下、NPY-Y1 受容体の活性化により、室傍核 Oxt ニューロンのシナプス伝達が長期的に抑制され、その結果、再摂食時の過食をもたらすことを明らかにした。これらの結果は室傍核 NPY-Y1 受容体経路は、絶食に伴う食欲・摂食促進に働くとともに、OXT ニューロンのシナプス可塑性を調節することが示された。これは、食事療法・ダイエット時のリバウンド性過食を誘導するメカニズムの 1 つである可能性が示唆される。

## 論文審査の結果の要旨

ニューロペプチド Y (NPY)のスライス標本添加、絶食動物スライス標本において視床下部室傍核オキシトシンニューロンの mEPSC が減少すること、この減少が Y1 受容体アンタゴニスト、IBMX 投与により阻害されることを見出した。バゾプレシンニューロンでは変化は見出せず選択性が見出された。また、絶食後の摂食量増加とオキシトシンニューロンにおける mEPSC 減少は共に絶食後 3 日間持続した。

オキシトシンニューロンのシナプス入力 of 可塑的变化が NPY-NPY 受容体により生じることを示したものである。

学位論文について、タイトルが自明でないこと、摂食とシナプス変化との因果関係、AP-5 と NPY の関係、Y1 受容体と Y5 受容体との関係、これまでの Y5 受容体アンタゴニストの作用報告との矛盾、大細胞性オキシトシンニューロンと小細胞性オキシトシンニューロンの関係、IBMX 投与実験の解釈、麻酔薬の記載について指摘がなされ、適切に改定された。全員一致で、提出された学位論文が学位にふさわしく、合格と判断された。

## 最終試験の結果の要旨

NPY のスライス標本投与、絶食操作により視床下部室傍核のオキシトシン産生ニューロンが興奮性シナプス伝達を減弱させること、この減弱が NPY 受容体アンタゴニストで阻害されること、このシナプス伝達の変化と摂食増加が平行して生じることを示した。in vitro のシナプスレベルの研究と in vivo の摂食データを組み合わせた興味深い研究である。

プレゼンテーションの後、スライス実験のデータと摂食との関連性、因果関係の証明、2 つの NPY 受容体の関係、cAMP の働き、過去の報告データとの関連について質問があり、候補者はこれらの疑問点について真摯に応答した。

訂正された学位論文、プレゼンテーション、その後の応答から学位にふさわしいと、全員一致で判断された