

氏名	村上明子
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	甲第 602 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	セラストロールは視床下部弓状核ニューロンに直接作用してレプチン感受性を高める
論文審査委員	(委員長) 教授 原 一 雄 (委員) 教授 遠藤 仁 司 講師 高柳 友 紀

## 論文内容の要旨

### 1 研究目的

レプチンは脂肪細胞から分泌され視床下部に働き、摂食抑制やエネルギー消費亢進を介して、体重調節に重要な役割を有している。一方、血中レプチン濃度は体脂肪量と正相関を示し、肥満者では血中レプチン濃度が高いにも関わらず肥満が是正されないレプチン抵抗性の状態にある。このため、肥満治療においてはレプチン抵抗性の改善が重要である。近年、レプチン抵抗性改善薬として天然化合物のセラストロールが見出された。しかし、その作用経路および作用メカニズムは不明である。今回、セラストロールの個体レベルでのレプチン感受性改善作用と共に、視床下部弓状核ニューロンへの直接作用を検討した。

### 2 研究方法

8 週齢雄性野生型 (C57BL/6J) マウスを対象に、普通食または高脂肪食下にてセラストロール投与を 8 週間実施し、体重および摂食量を測定した。対照群にはビークル投与を行った。

また、普通食で飼育した非肥満マウスおよび 8 週間の高脂肪食負荷を行った肥満マウスを対象に、3 日間セラストロール投与を行い、レプチンの摂食抑制作用および視床下部 STAT3 のリン酸化に及ぼす影響を検討した。

更に、非肥満マウスおよび肥満マウスから視床下部弓状核ニューロンを単離し、セラストロール添加時のレプチンに対する反応性を Fura-2 を用いた細胞内カルシウム濃度測定法により評価した。

### 3 研究成果

普通食下においても高脂肪食下においても、ビークル群と比較してセラストロール群で体重増加と摂食量は有意に抑制された。

セラストロール 3 日間投与では非肥満マウスと肥満マウスはいずれにおいても体重や血糖値に明らかな変化は認められなかったが、非肥満マウスと肥満マウスはいずれにおいてもビークル群と比較してセラストロール群でレプチンによる摂食抑制作用の増強が認められた。また、レプチンによる視床下部 STAT3 のリン酸化作用についても、非肥満マウスと肥満マウスのいずれにおい

てもビーグル群と比較してセラストロール群で増強が認められた。

次に、マウスより視床下部弓状核ニューロンを単離し、セラストロールの直接作用を検討した。非肥満マウスおよび肥満マウスから単離した弓状核ニューロンはいずれもセラストロール添加によりレプチンに反応するニューロンの数が増加し、またレプチンに反応したニューロンの細胞内カルシウム濃度が有意に増加した。

これらの結果から、セラストロールは視床下部弓状核ニューロンへ直接作用し、ニューロンが由来するマウスの肥満度に関わらずレプチンに対する感受性を高める事が明らかとなった。

#### 4 考察

本研究は単離視床下部弓状核ニューロンと Fura-2 による細胞内カルシウム濃度測定法を用いて、視床下部弓状核ニューロンに対するセラストロールの直接作用を明らかにした。これまでセラストロールは視床下部のレプチン感受性を改善させると報告されてきたが、その作用部位は不明であった。セラストロールは脂肪組織に直接作用し、HSF1-PGC1 $\alpha$  (熱ショック転写因子 1 - ペルオキシソーム増殖因子活性化レセプター $\gamma$  共役因子 1  $\alpha$ ) 転写活性化経路を活性化しエネルギー消費を亢進させる事が報告されているが、視床下部ニューロンへの直接作用は不明であった。本研究では弓状核ニューロンが少なくとも一つのセラストロールの直接作用部位である事を示した。これまでの報告では、肥満マウスとは対照に、非肥満マウスにおけるセラストロールの体重増加抑制作用については一定した結果が得られていない。本研究では非肥満マウスにおいてもセラストロールは体重増加を有意に抑制し、セラストロールのレプチン作用に及ぼす影響を検討した実験においても非肥満マウスでセラストロールはレプチンの摂食抑制作用および視床下部 STAT3 リン酸化作用を増強した。これと一致して、非肥満マウスから単離した視床下部弓状核ニューロンにおいてもセラストロールはレプチン感受性を高める事を確認した。今回、セラストロールが弓状核ニューロンに直接作用してレプチン感受性を高める事が明らかとなったが、セラストロールの標的分子については依然不明である。インターロイキン 1 受容体タイプ 1 (IL1R1) がセラストロールの視床下部におけるレプチン感受性増強に必要なであるとの報告や、セラストロールはメラノコルチン 4 型受容体 (MC4R) を介さずに摂食や体重増加を抑制するとの報告があるが、セラストロールの標的分子は不明である。今後、IL1R1 ノックアウトマウスや MC4R ノックアウトマウスから単離した視床下部ニューロンと本研究で用いた細胞内カルシウム濃度測定法を用いる事によりセラストロールのレプチン感受性改善作用における分子メカニズムが明らかとなる事が期待される。

#### 5 結論

本研究はセラストロールが視床下部弓状核ニューロンへ直接作用し、ニューロンが由来するマウスの肥満度に関わらずレプチンに対する感受性を高める事を明らかにした。この知見はセラストロールのレプチン感受性改善における分子メカニズム、引いてはレプチン抵抗性の分子メカニズムの解明に繋がるものと期待される。

## 論文審査の結果の要旨

- 本学位論文は何を明らかにしたのか

脂肪細胞から分泌されるレプチンは視床下部に働きエネルギーバランスの調節に重要な役割を担っている。肥満者ではレプチンに対する反応性低下が認められ、レプチンが抗肥満薬として成り立たないという課題がある。レプチン抵抗性の分子メカニズムの解明とレプチン抵抗性を解除する方法の開発はレプチン投与と併用することで、肥満の有効な薬物治療の開発につながるため非常に有用なデータを提供する。本学位論文は、天然化合物であるセラストロールがレプチン抵抗性を改善する可能性があるとの先行研究から着想を得て、セラストロールの個体レベルでのレプチン感受性改善作用を検討した。セラストロールの直接作用部位として少なくとも視床下部弓状核ニューロンは含まれること、その作用は STAT3 リン酸化を介することを明らかにした。

- 上記内容をどのように評価したのか

セラストロールは少なくともマウスでは個体レベルでのレプチン感受性改善作用がある事を確認した点で先行研究の結果を補強した意義がある。また、先行研究ではセラストロールの直接作用部位や作用伝達分子について明らかにされていない。本研究でセラストロールは少なくとも部分的には視床下部弓状核ニューロンにおける STAT3 リン酸化を介してレプチン抵抗性改善作用を発揮する可能性を示唆した点で新規性があると評価した。

- 問題点および改訂の指導内容

本研究に供された実験動物の摂食量測定方法や実験データの比較の妥当性、統計学的手法について指導があった。また、統計学的解析結果に基づいて本文の表現を改訂するように指導がなされた。また、グラフの表示番号や試薬会社の綴りの間違い、引用文献の順序の間違いなど単純ミスについて複数の指摘があった。

- 本学学位論文としての合否の判断結果およびその理由

実験結果の解釈や、論文中の文章表現に問題点を指摘され、それに添って申請者は適切な修正を行なった。この修正に対し、審査員一同、改善されたことを認め学位論文として相応しいと判断した。

## 最終試験の結果の要旨

- 本学位論文は何を明らかにしたのか

脂肪細胞から分泌されるレプチンは視床下部に働きエネルギーバランスの調節に重要な役割を担っている。肥満者ではレプチンに対する反応性低下が認められ、レプチンが抗肥満薬として成り立たないという課題がある。レプチン抵抗性の分子メカニズムの解明とレプチン抵抗性を解除する方法の開発はレプチン投与と併用することで、肥満の有効な薬物治療の開発につながるため非常に有用なデータを提供する。本学位論文は、天然化合物であるセラストロールがレプチン抵抗性を改善する可能性があるとの先行研究から着想を得て、セラストロールの個体レベルでのレプチン感受性改善作用を検討した。セラストロールの直接作用部位として少なくとも視床下部弓状核ニューロンは含まれること、その作用は STAT3 リン酸化を介することを明

らかにした。

- 上記内容をどのように評価したのか

セラストロールは少なくともマウスでは個体レベルでのレプチン感受性改善作用がある事を確認した点で先行研究の結果を補強した意義がある。また、先行研究ではセラストロールの直接作用部位や作用伝達分子について明らかにされていない。本研究でセラストロールは少なくとも部分的には視床下部弓状核ニューロンにおける **STAT3** リン酸化を介してレプチン抵抗性改善作用を発揮する可能性を示唆した点で新規性があると評価した。

- 問題点および改訂の指導内容

本研究に供された実験動物の摂食量測定方法や実験データの比較の妥当性、統計学的手法について指導があった。また、統計学的解析結果に基づいて本文の表現を改訂するように指導がなされた。また、グラフの表示番号や試薬会社の綴りの間違い、引用文献の順序の間違いなど単純ミスについて複数の指摘があった。

- 本学学位審査としての可否の判断結果およびその理由

最終審査会に際しては、適切にプレゼンテーションがなされ、質問に対して真摯に対応していた。以上の観点から、申請者は学位に値する学識が備わっていると審査委員全員が判断し、最終試験に合格とした。