

氏 名 藪内 雅文

授与した学位 博士

専攻分野の名称 理学

学位授与番号 博甲第4152号

学位授与の日付 平成22年 3月25日

学位授与の要件 自然科学研究科 バイオサイエンス専攻

(学位規則第5条第1項該当)

学位論文の題目 ニワトリのエネルギー恒常性維持機構に関する研究

論文審査委員 准教授 竹内 栄 教授 高橋 純夫 教授 坂本 竜哉

学位論文内容の要旨

メラノコルチンシステム (MS) は、メラノコルチンとその受容体 (MCR)、および MCR インバースアゴニストからなるシグナルシステムであり、多岐にわたる生理機能制御に関与している。近年の精力的な研究により、MS は哺乳類のエネルギー恒常性維持機構において中心的役割を果たしていることが明らかになってきた。本研究では、産業的にも重要な家禽であるニワトリのエネルギー恒常性維持における MS の機能を解明するため、摂食中枢である視床下部とエネルギー蓄積・動員組織である脂肪組織におけるメラノコルチン前駆体 pro-opiomelanocortin (POMC) と MCR インバースアゴニストである agouti-related protein (AGRP)、agouti-signaling protein (ASIP) の発現解析を行った。

1. 視床下部 MS と摂食制御

哺乳類における視床下部摂食増強因子 AGRP のニワトリオーソログの mRNA 構造および発現を解析した。その結果、ニワトリ *Agrp* mRNA に選択的プロモーター使用に起因する 2 種類のバリエーション (α type および β type) が存在することが分かった。 α type は哺乳類やウズラの *Agrp* mRNA に相当するもので、視床下部に高発現していたのに対し、 β type は広範な組織での発現が認められた。ニワトリの *Agrp* 遺伝子 5' 上流域にはウズラの遺伝子にはない DNA 配列の挿入が見られ、その領域に β type の転写開始点が含まれていたことから、ニワトリに特有な *Agrp* mRNA の広範な発現がこの DNA 挿入に起因する可能性が示唆された。ニワトリに絶食を負荷すると、視床下部 *Pomc* mRNA の発現量は減少傾向を示し、*Agrp* α type mRNA の顕著な発現亢進が認められた。このことは、エネルギー欠乏状況に対する適切な生理的応答性がニワトリにも存在することを意味する。一方、高脂肪食を負荷した場合には、視床下部における *Pomc* および *Agrp* mRNA 発現レベルに有意な変化が認められなかった。ニワトリでは満腹シグナルの欠損あるいは満腹シグナルへの応答性の欠損が疑われた。これらの結果は、哺乳類の満腹シグナルレプチンのオーソログがニワトリゲノムに存在しないという報告を支持する。

2. 脂肪組織 MS と脂肪の蓄積・動員

ヒトの脂肪組織には脂質代謝を制御する局所性 MS が存在するが、マウスには存在しない。ニワトリにおける局所性 MS の存在を RT-PCR 解析により調べた。その結果、内臓と皮下の両脂肪組織において MS 構成遺伝子群がそろって発現していることが分かった。ニワトリに 48 時間の絶食を負荷した結果、体重減少、脂肪組織における細胞サイズの減少が観察されるとともに、血漿中遊離脂肪酸の上昇、グルコース、トリアシルグリセロール、インスリンレベルの減少が認められた。これらは、エネルギー欠乏状況下での糖新生に繋がる脂肪分解が起こったことを示唆する。この時、脂肪組織の *Asip* mRNA 発現は有意に低下し、*Pomc* mRNA 発現は上昇していた。メラノコルチンは強力な脂肪分解作用を有し、ASIP は脂肪蓄積作用があることから、脂肪組織 MS は、脂質代謝を局所的に制御していると考えられた。

本研究から、ニワトリに哺乳類と類似した視床下部 MS が存在し、それが摂食制御に関与していることが示唆された。その MS はエネルギー欠乏状況下では哺乳類のそれと類似した挙動を示し、エネルギー過剰供給下では哺乳類の場合と異なり、応答性を示さなかった。この応答性の欠損がニワトリの過食の一因と考えられた。また、ニワトリはマウスとは異なり、脂肪組織に局所性 MS を備えており、ヒトの場合と同様に脂質代謝を局所的に制御していると考えられた。

論文審査結果の要旨

メラノコルチンシステムは、哺乳類のエネルギー恒常性維持において中心的な役割を果たしている。本研究では、自由摂食下で過食・肥満を呈するニワトリのメラノコルチンシステムについて、摂食中枢の視床下部、およびエネルギーの蓄積・動員組織である脂肪組織における存在を検証し、その性格付けをすることを目的とした。

視床下部摂食促進因子 *AGRP* のニワトリオーソログの mRNA 構造および発現を調べた結果、選択的プロモーター使用に起因する 2 種類のバリエーション (*isoform a* と *isoform b*) が同定された。*isoform a* は哺乳類やウズラの *Agrp* mRNA に相当するもので、視床下部に高発現していたのに対し、*isoform b* は広範な組織発現が認められた。*Agrp* 遺伝子 5' 上流域には特有の DNA 配列が存在し、その領域に *isoform b* の転写開始点が含まれていたことから、ニワトリに特有な *Agrp* mRNA の広範な組織発現はこの DNA 挿入に起因するものと考えられた。ニワトリに絶食を負荷すると、視床下部 *Pomc* mRNA の発現量は減少傾向を示し、*Agrp isoform a* mRNA の顕著な発現亢進が認められた。このことは、ニワトリにエネルギー欠乏状況に対する適切な生理的応答性が存在することを意味する。一方、高脂肪食負荷では、視床下部の *Pomc* および *Agrp* mRNA の発現レベルに有意な変化が認められなかった。ニワトリでは満腹シグナルの欠損あるいは満腹シグナルへの応答性の欠損が疑われた。内臓脂肪と皮下脂肪の両組織では、メラノコルチンシステム構成遺伝子群がそろって発現しており、ニワトリに絶食を負荷して蓄積脂肪の分解を誘導すると、*Asip* mRNA 発現が有意に低下し、*Pomc* mRNA 発現は上昇した。メラノコルチンは強力な脂肪分解作用を有し、*ASIP* は脂肪蓄積作用があることから、局所性のメラノコルチンシステムが脂質代謝、少なくともエネルギー欠乏条件下での糖新生に繋がる脂肪分解を制御している可能性が示唆された。また、ニワトリの過食・肥満は、これらのメラノコルチンシステムに過剰発現した *AGRP* や *ASIP* が作用することで引き起こされている可能性が考えられた。

本研究成果は、鳥類内分泌学の基礎分野に重要な新知見を与えるのみならず、応用分野にも有用であり、学術上の貢献が大きいと評価されることから、博士の学位に値すると結論された。