

氏名(本籍)	やま なか あき ひろ 山中章弘(香川県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博甲第2393号
学位授与年月日	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	Chronic intracerebroventricular administration of orexin-A to rats increases food intake in daytime, but has no effect on body weight (ラット脳室内へのオレキシン-A持続投与は明期の摂食量を増加させたが、体重増加には影響がなかった)
主査	筑波大学教授 医学博士 工藤典雄
副査	筑波大学教授 医学博士 岡戸信男
副査	筑波大学助教授 医学博士 奥田諭吉
副査	筑波大学講師 医学博士 松崎一葉

論文の内容の要旨

(目的)

Orexin (orexin-A and -B) は orphan receptor のリガンドとして、近年同定された神経ペプチドである。Orexin-A および -B は共通の前駆体である prepro-orexin から酵素的に切り出されて生成されると推定されている。Orexin-A は 33 アミノ酸残基からなり、分子内に 2 つの disulfide bond を有する。Orexin-B は 28 アミノ酸残基からなる直鎖状のペプチドである。Orexin-A および -B の C 末端はアミド化されており、orexin-A の N 末端はピログルタミン酸残基である。また、orexin の構造は様々な種間で良く保存されている。現在までのところ orexin には 2 種類の受容体 (OX1R and OX2R) が知られている。OX1R は、orexin-A に対して高い親和性を示し、OX2R は orexin-A 及び -B に対して等しい親和性を示す。両受容体間にはアミノ酸レベルにおいて 64% の相同性をもっている。Orexin は部位特異的に発現しており、その中でも特に摂食中枢として知られる視床下部外側野 (LHA) とその周辺の神経細胞に限局して発現が見られる。Orexin-A または -B をラットの脳室内に投与すると、濃度依存的にラットに摂食行動を誘発させる。また、ラットを絶食させると視床下部内 prepro-orexin mRNA 発現が 2.5 倍に上昇することが知られている。これらの結果は orexin が摂食行動において何らかの役割を担っている事を示唆している。現在までに摂食行動を誘発する生理活性物質として neuropeptide Y (NPY), galanin, melanin-concentrating hormone (MCH) 及びいくつかの opioid peptide などが知られている。これまで、NPY を脳室内に持続的に投与すると、体重が増加し hypercortisolemia, hyperinsulinemia, 白色脂肪への triglyceride の蓄積などの肥満様症状を呈することから NPY は肥満形成に重要な役割を担っていると考えられている。Orexin も摂食を亢進させる事が知られているので、orexin-A の脳室内長期投与が NPY と同様に摂食を亢進させ、肥満を形成するかどうかを検討した。

(対象と方法)

Wistar ラット (250-300g) をペントバルビタール (50mg/kg, i.p.) にて麻酔し、脳定位固定装置に固定した後、側脳室にガイドカニューレを挿入する手術を行った。1 週間回復させた後、浸透圧ポンプ (ALZET:1007) を用いて 1 週間持続投与を行った。浸透圧ポンプはラット背皮下に固定し、ポリエチレンチューブを介して脳室内に

orexin-A を持続投与した。Orexin-A は精製水に溶解し、0.5nmol/hr/0.5 μ l で持続投与を行った。対照群として精製水のみを持続投与したラットを用いた。Orexin-A 投与中は明期と暗期に分けて摂食量を測定した。実験終了後に血液を採取し、生化学検査（血糖値、総コレステロールおよび遊離脂肪酸）を行った。

（結果）

Orexin-A を長期脳室内投与すると明期の摂食量は有意に増加したが、逆に暗期の摂食量は減少した。結果として一日の摂食量としては orexin-A 投与群、対照群間で有意な差は観察されなかった。体重増加も対照群と比較して変化がなかった。実験終了後の血液生化学検査（血糖値、総コレステロール値および遊離脂肪酸）において、orexin-A 投与群、対照群間で有意な変化は観察されなかった。しかしながら、orexin-A を持続投与されたラットは明期にも行動し摂食行動の亢進が観察された。

（考察）

通常ラットは夜行性で一日に摂取する餌の85-90%を暗期に摂食し、明期にはほとんど寝ていて摂食行動はほとんど観察されない。Orexin-A を持続投与群における明期の活発な活動は orexin-A の持続投与により摂食行動におけるサーカディアンリズムが変化していることが考えられる。orexin 含有神経細胞体は視床下部外側野に局限しながら小脳を除く脳の広範囲に広く投射が観察されている。特にノルアドレナリン神経の起始核である locus coeruleus, セロトニン神経の起始核である raphe nucleus, ヒスタミン神経の起始核である tuberomammillary nucleus に高密度な投射をしている。これらの部位は睡眠-覚醒リズム形成に重要とされているため、orexin はこれらの部位を介して睡眠-覚醒リズム形成に関与している可能性も考えられる。ob/ob mouse や db/db mouse において prepro-orexin mRNA レベルが減少していることも報告されているため、orexin は NPY とは異なり、短期の摂食行動調節に関与しているのかもしれない。

審 査 の 結 果 の 要 旨

近年同定された神経ペプチドである orexin-A は、含有細胞の脳内分布から摂食調節への関与が強く示唆されている。本論文は、orexin-A の脳室内長期投与による摂食行動への影響を調べ、このペプチドがこれまで摂食調節物質として知られている NPY とは異なる機構で摂食を調節していること、また日周期に伴う行動調節に重要な役割を担っていることを明らかにしている。本論文は、orexin-A の機能について新たな展開を示すものであり、学位論文として十分な内容をもつと判断される。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。