

論 文 要 旨

Centrally administered neuromedin S inhibits feeding behavior and gastroduodenal motility in mice.

Neuromedin S の中枢投与は
マウスにおいて摂食行動及び腸管運動を抑制する

改元 香

【序論および目的】

本研究では、ラットにおいて摂食抑制作用を有すると報告されている Neuromedin S をマウスの中枢に投与し、摂食量に及ぼす影響を検討する。また、未だ報告されていない Neuromedin S の腸管運動への影響を検討する。

【材料および方法】

実験は、雄性 C57BL/6J マウス(8—10 週齢、体重 20—25 g)を用いた。マウスは温度 22 °C、午前 7 時点灯午後 7 時消灯の室内で、個別ケージにて飼育された。

【被験薬物】

被験薬物として Neuromedin S (MW. 4259.06; purity \geq 95%, White powder: Phoenix Pharmaceuticals, Inc., CA, USA)を用いた。

【脳室内投与】

マウスは 8 週齢にてペントバルビタールナトリウム (50 mg/kg) の腹腔内投与により麻酔し、脳室内に 24 ゲージのカニューレを挿入固定し、1 週間後より実験に用いた。脳室内投与はマイクロシリンジを用いてマウスの行動が妨げられないよう注意して行った。

【摂食量測定】

絶食下試験では、投与前日午後 5 時より絶食を開始し、飲水は自由摂水とした。翌日午前 9 時に Neuromedin S (0, 0.1, 0.3, 1 nmol/mouse)の投与を行い、投与後 24 時間の摂食量を測定した。非絶食下試験では、消灯(午後 7 時)直前に Neuromedin S (0, 0.1, 0.3, 1 nmol/mouse)の投与を行い、投与後 24 時間の摂食量を測定した。餌はマウス用固形食を用いた。

【腸管運動測定】

マウスは 9 週齢にてペントバルビタールナトリウム (50 mg/kg) の腹腔内投与による麻酔下で開腹し、胃・十二指腸にカテーテルを留置し、1 週間後より実験に用いた。測定はマンOMETリック法を用いて測定した。測定前日午後 4 時より絶食を開始し、飲水は自由摂水とした。翌日午前 10 時に測定を開始し、約 1 時間後に Neuromedin S (0, 0.1, 1 nmol/mouse)の投与を行い、その後約 2 時間 30 分腸管運動を記録した。測定中は無麻酔、無拘束下で圧トランスデューサーを用いて行った。

[胃排出能測定]

16時間絶食下のマウスにおいて、1時間絶食を解除した後、Neuromedin S (0, 0.3, 1 nmol/mouse)の投与を行った。投与後再び絶食にし、投与2時間後に頸椎脱臼し、開腹、胃の噴門及び幽門において結紮し、胃を摘出し冷凍した。胃内容物を凍結乾燥して乾燥重量を測定し、胃排出率を $\text{gastric emptying rate (\%)} = \{1 - (\text{胃内容物の乾燥重量} / \text{摂食量})\} \times 100$ にて算出した。

【結果】

摂食試験において、Neuromedin S の中枢投与は、絶食下及び非絶食下のマウスの摂食量を用量依存的に有意に減少させた。腸管運動においては、Neuromedin S の中枢投与は、胃・十二指腸における空腹期運動を抑制した。また、Neuromedin S の中枢投与2時間後におけるマウスの胃排出は有意に抑制された。

【結論及び考察】

Neuromedin S のマウスの脳室内投与は、用量依存的に有意に摂食量を減少させた。この結果はすでに報告されているラットを用いた結果とほぼ一致している。摂食と腸管運動は密接に関係し、視床下部における神経ペプチドが重要な役割を果たしている。本研究において、胃・十二指腸における空腹期運動は Neuromedin S の脳室内投与によりブロックされるとともに胃排出は有意に抑制された。これらの知見は、ウロコルチンなどの摂食抑制系の神経ペプチドの結果とほぼ一致している。今後さらに Neuromedin S の摂食、腸管運動への作用のメカニズムが解明されることにより、食行動異常や機能性胃腸障害、生活習慣病等における病態の解明及び治療への貢献が期待される。

(Hormone and Metabolic Research 42(7): 535-538 2010年 掲載)

論文審査の要旨

報告番号	総研第 185号		学位申請者	改元 香
審査委員	主査	橋口 照人	学位	博士 (医学) 歯学・学術)
	副査	小賤 健一郎	副査	西尾 善彦
	副査	池田 聡	副査	八木 孝和

Centrally administered neuromedin S inhibits feeding behavior and gastroduodenal motility in mice.

(Neuromedin S の中枢投与はマウスにおいて摂食行動及び腸管運動を抑制する)

ラットにおいて摂食抑制作用が報告されている新規生理活性ペプチド、Neuromedin S をマウスの中枢に投与し、摂食量と未だ報告されていない腸管運動に与える影響を検討した結果についての報告である。Neuromedin S の腸管運動についての影響は不明であり、本研究が初めての報告である。今回は腸管運動への影響を検討するために、胃十二指腸運動及び胃排出の測定を行っている。胃十二指腸運動の測定は、無麻酔、無拘束下で小型動物（ラット、マウス）の空腹期と食後期の消化管運動を測定することを可能とした、マノメトリー法を用いて行っている。

本研究で以下の知見が明らかにされた。

- 1) 摂食実験において、絶食下でのNeuromedin S のマウスへの中枢投与は、摂食量を用量依存的に有意に減少させた。また、非絶食下でも同じように摂食量を有意に減少させた。
- 2) Neuromedin S の中枢投与は胃十二指腸における空腹期運動 (MMC:migrating motor complex)を約30分間消失させた。
- 3) 胃排出の測定において、Neuromedin S の中枢投与2時間後、マウスの胃排出は有意に抑制された。

Neuromedin S のマウスの脳室内投与は、摂食行動と共に腸管運動を抑制し、強力な摂食抑制系の神経ペプチドであるウロコルチンなどの結果とほぼ一致している。また、マウスにおける胃十二指腸運動の測定は極めて限られた施設のみで可能であり、Neuromedin S に関する腸管運動の報告は初めてである。摂食行動及び腸管運動において、Neuromedin S の作用のメカニズムが今後さらに解明されることにより、機能的胃腸障害や食行動異常、生活習慣病等における病態の解明及び治療への貢献が期待される。

本研究は、Neuromedin S が中枢において、生理的条件下でも摂食行動及び腸管運動の調節に関与している可能性を示唆している。摂食行動のみならず、消化管運動への効果を示した点で非常に興味深い。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 185号	学位申請者	改元 香
審査委員	主査	橋口 照人	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	小賤 健一郎	副査 西尾 善彦
	副査	池田 聡	副査 八木 孝和
<p>主査および副査の5名は、平成24年3月21日、学位申請者 改元 香 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。</p> <p>質問1) Neuromedin S の作用機序は検討したのか？</p> <p>(回答) 作用機序の検討はまだ十分に行っていない。摂食抑制に関してはα MSH, CRH などを紹介し、胃十二指腸運動抑制に関してはCRH 2型受容体を介していると推察しており、今後検証していきたい。</p> <p>質問2) 摂食への治療にどのように応用するのか？</p> <p>(回答) 点鼻薬として応用できる可能性がある。あるいは合成ペプチドとして、経口投与で臨床に応用できる可能性を考えている。</p> <p>質問3) Neuromedin S の脳室内投与が受容体を活性化させているかどうか、組織学的に検討したのか？</p> <p>(回答) 検討していない。これまでの報告としては、受容体の活性化の報告はないが、Neuromedin S 投与により、弓状核と室傍核のニューロンを活性化させ、α MSH 及び CRH の発現量を増加させるという報告がある。</p> <p>質問4) 今回の Neuromedin S の摂食や腸管運動の作用で、ペプチド以外に関連している分子は何か推察できるか？</p> <p>(回答) アドレナリン、セロトニン及びヒスタミンなどのアミンも、摂食行動や腸管運動に関与している。とりわけ、セロトニンは悪液質の病態に重要であることが明らかにされている。但し、今回の Neuromedin S がこれらの分子に関与しているかは検証していない。</p> <p>質問5) 生理的には Neuromedin S はどのように調節されているのか？</p> <p>(回答) Neuromedin S は光刺激、すなわち明暗サイクルの影響を受けて発現量が増減し、体内時計の上流でサーカディアンリズムを調節していると考えられている。</p> <p>質問6) Neuromedin S の遺伝子発現の調節は明らかになっているのか？</p> <p>(回答) 光刺激により発現が調節されていることは明らかであるが、その詳細はまだわかっていない。</p> <p>質問7) Neuromedin S と Neuromedin U の作用としてはどのような違いがあるのか？</p> <p>(回答) Neuromedin S は Neuromedin U と比較して約10倍強力で摂食量を減少させ、Neuromedin S はレプチンの下流シグナルとして機能している可能性がある。一方、Neuromedin U は、レプチンとは別経路で摂食を抑制することが報告されている。</p> <p>質問8) マノメトリー法において、胃十二指腸にチューブが入っていることへの影響はどのように考えているのか？</p> <p>(回答) カテーテル留置に伴う感染はほぼ皆無であり、摂食飲水行動・栄養吸収への影響は軽微であると考えられる。また、カテーテル留置を的確に行うことで、測定中にマウスへ苦痛を与えることはなく、消化管運動測定には問題はないと考える。</p>			

最終試験の結果の要旨

質問9) トランスデューサー法とマンOMETRY法の比較実験もしくは先行研究などはあるのか？

(回答) 比較実験の報告はないが、それぞれの測定法を用いた先行研究から、どちらの方法も消化管運動測定における感度の違いはほとんど無い。また、マンOMETRY法はヒトへの応用が可能である。

質問10) 脳室内にペプチドが入ったという確認はどのようにしているのか？

(回答) 毎回ではないが、トリパンブルーをカニューレから投与し、脳室内に入っていることを確認している。

質問11) 絶食下摂食実験と非絶食下摂食実験を比較して、抑制時間及び効果の差に関してどのように考察しているのか？

(回答) 摂食抑制系のペプチドの効果は、非絶食下よりも絶食下で検討されてきた。非絶食下の摂食量が少ないことも一因である。また、絶食下と非絶食下ではホルモン動態が異なるため、それらの差異が摂食行動変化に関与していることが考えられる。

質問12) 消化管運動と摂食は全く別のルートで動いているのか？

(回答) Neuromedin Sにおいては、消化管運動はCRH 2型受容体、 α アドレナリン受容体を介して抑制し、摂食行動は α MSH, CRHを介して抑制していると考えている。

質問13) 実験の過程で、運動量や活動量に何か変化があったか？

(回答) 不安行動をひき起こす報告はあるが、本研究においては実験中明らかな行動変化は観察されなかった。

質問14) 絶食下摂食実験において、1 nmol 投与により、24 時間以上持続して薬物の効果があるのか？あるいは24 時間までの効果なのか？

(回答) 本研究では24時間までの薬物効果であったが、ラットを用いた研究で3日以上の効果があることが報告されている。

質問15) 胃排出能において0.1 nmolでの効果は検討したのか？

(回答) 今回は検討していない。

質問16) Neuromedin Sのストレス反応についてはどのように考えているのか？

(回答) ラットにおける報告より、CRH 1型受容体を介して視床下部・下垂体・副腎軸及び交感神経系が活性化されていると考えている。

質問17) 絶食下摂食実験は明期、非絶食下摂食実験は暗期で観察した理由は何か？

(回答) 絶食下の摂食実験は明期、暗期ともに可能であるが、非絶食下の摂食実験は、生理的条件下である暗期で行った。

質問18) サーカディアンリズムと摂食がリンクしているデータはあるのか？

(回答) Neuromedin Sにおけるデータはないが、NPYやGhrelinは、サーカディアンリズムと摂食行動が関連していると報告がある。今後、サーカディアンリズムの観点から検討を加えたい。

質問19) Neuromedin Sの作用は食欲を抑制した結果、消化管運動が抑制されるのか？あるいは消化管運動を抑制した結果、食欲が抑制されるのか？

(回答) 消化管運動は食欲調節の一部に関与しており、Neuromedin Sに関しては、 α MSH, CRHを介して食欲が抑制されると共に、CRH 2型受容体を介して消化管運動が抑制されると考えている。

質問20) Neuromedin Sは視交叉上核からどのようにペプチドとして産生・分泌されるのか？

(回答) ヒトでは153アミノ酸からなるPrepro-Neuromedin Sが産生され、その後N末端のシグナルペプチド並びに4か所のCleavage siteで切断され、最終的に36アミノ酸残基の活性型Neuromedin Sができる。

質問21) 空腹時にNeuromedin Sの発現は減少するのか？

(回答) 報告はないが、Neuromedin Sはレプチンの下流シグナルとして機能するため減少する可能性はある。

以上の結果から、5名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士(医学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。