

[8]

氏 名 (本籍)	小泉 美和子 (東京都)		
学 位	博士 (学術)		
学位記号番号	博乙第32号		
学位授与年月日	平成14年3月8日		
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当		
論 文 題 目	Enterostatin—its regulatory activity for the feeding of fat		
論文審査委員	(主査)	教 授	木村 修一
		教 授	小此木 成夫
		教 授	谷村 顕雄
		教 授	福場 博保
	九州大学	名誉教授	大村 裕

論 文 要 旨

脂肪を食べたあと脂肪に対する嗜好が低下することはよく知られた現象である。しかし、炭水化物のように脳中枢における摂取調節機構はまだ明らかにされていない。エンテロスタチン説は脂肪摂取調節機構の一つとして提案された仮説である。

すなわち脂肪を摂取すると、その分解酵素であるリパーゼやコリパーゼが膵臓から分泌されるが、このコリパーゼは腸管中に前駆体の形で分泌され、そこで分解して（そのN-末端が分離されて）できた物質がエンテロスタチンであり、これが中枢に働いて脂肪摂取を抑えるのであろうという説である。

エンテロスタチンは、多くの哺乳動物で Val-Pro-Asp-Pro-Arg の構造を取ることが知られている。

しかし、エンテロスタチンの特異的抗体やレセプターがいまだに見出されておらず、血中や脳内における微量なエンテロスタチンを測定することは不可能であった。そのため、エンテロスタチンが末梢血から脳内へ移行されるのかどうかは明らかにされていない。一方、これまでの研究で、摂食調節を司る上でセロトニン (5-HT)・ドーパミン (DA)・ノルエピネフリン (NE) のようなモノアミン系神経伝達物質の関与が知られており、モノアミン系神経伝達物質の摂食調節に対する主座として視床下部が注目されてきた。

本研究はエンテロスタチンが、はたして脂肪摂取調節機構を説明できるか否かを検討する目的で行われたものである。長年疑問視されてきたエンテロスタチンの血液-脳関門の通過および脳内分布と体内動態を明らかにするために、本論文では放射性のエンテロスタチンを用いた検討を行い、エンテロスタチンが末梢血から脳内へ取り込まれるのかどうかを追求するとともに、エンテロスタチンが摂食中枢として知られる視床下部外側野内のセロトニンおよびドーパミン放出に影響を及ぼすか否かをマイクロダイアリシスによって検討

したものである。

本論文は4つの章から構成されており、第1章のテーマは「エンテロスタチン第三脳室投与による脂肪摂取への影響および血中グルコース・インスリン値の変動」であり、合成したエンテロスタチンを高脂肪食を嗜好するラットの第三脳室より注入したときの摂食応答を検討した。その結果200ng という微量の注入により、有意に食欲を抑制することが分かった。高脂肪食摂取に対する摂食抑制効果は逆U字型の dose-response を示すことを確かめた。

第2章のテーマは「エンテロスタチンの血液-脳関門の透過および組織内分布：³H-VPDPR を用いた検討」で、トリチウムをラベルした放射性エンテロスタチン (³H-VPDPR) をラット尾静脈内に投与し、脳内に検出されるのかどうか、すなわち血液-脳関門を通過するかどうかの検討をした。分画した脳組織8部位への³H-VPDPR の取り込みを測定したところ、脳内に到達した量は微量であったが、広い範囲に分布することが明らかになった。また、投与30分後の臓器および組織を採取し、³H-VPDPR の体内動態を検討したところ、膵臓に最も高い取り込みが認められた。血液、脳脊髄液および脳組織中の intact な³H-VPDPR の同定は薄層クロマトグラフィを用いて行った。これらの結果から、³H-VPDPR は血液-脳関門を通過し、脳内に取り込まれることを明らかにした。

第3章のテーマは「エンテロスタチンの視床下部外側野セロトニン・ドーパミン放出への影響：in vivo Microdialysis による検討」である。ここではラット視床下部外側野 (LHA) にエンテロスタチンを投与したときの神経伝達物質セロトニンおよびドーパミンの放出量の変化をマイクロダイリシス法で検討した。その結果、エンテロスタチン1 μ M および2 μ M を還流したときに、有意なセロトニン放出量の増加を認め、逆U字型の dose-response を示すことがわかった。ドーパミン放出量はエンテロスタチン2 μ M を還流したときに有意な増加を認めた。このことからエンテロスタチンは視床下部外側野におけるセロトニン神経系とドーパミン神経系に直接作用し、これら神経伝達物質の放出を促進することが明らかとなり、これを介して摂食抑制を行っている可能性を示唆することができた。

第4章のテーマは「エンテロスタチンの脳内分布および体内動態：特に高脂肪食・無脂肪食・標準食の摂取あるいは絶食を負荷した時の動態」である。

無脂肪食・標準（低脂肪）食・高脂肪食の3種類の食餌に馴化させたラットおよび48時間の絶食を負荷したラットの尾静脈内に³H-VPDPR を投与した時の脳内分布と体内動態を検討した。この実験で絶食群における取り込みが他の3つの食餌摂取群よりも高値を示した。これらの結果、すなわち、脂肪を摂取した時に³H-VPDPR の集積が低くなったという現象は、内在性のエンテロスタチンが食餌摂取によって産生されていることを強く示唆するものである。これらの結果を総合すると、エンテロスタチンが脂肪摂取調節に強く関与していることをしめすものであり、エンテロスタチン説を強く支持する結果となった。

審査報告要旨

本論文は脂肪摂取における脳・中枢神経における調節機構を真っ正面から追求したものといえよう。デンプンなど炭水化物をある程度摂取すると、満腹感が生じ、摂食をやめるが、暫くすると再び空腹感（飢餓感）が生じ、摂食を始めるという摂食調節作用が認められるが、このメカニズムは古くから研究され、視床下部にその調節機能の中枢があることが分かってきた。すなわち視床下部の腹内側核および視床下部外側野にそれぞれ満腹中枢と摂食中枢が存在し、そこにあるリセプターが糖（グルコース）の濃度変化をシグナルとして捉えて調節しているという機構である。しかし脂肪を摂取したときに起こる「もうこれ以上脂肪を食べるのは嫌」となって食べることを止める中枢神経機構についてはまだ明らかではない。本論文はこの点を明らかにする目的で行われた研究である。

脂肪摂取における脳・中枢神経機構に関しては、これまでさまざまな仮説がある。エンテロスタチン説もその一つである。この説の概要は次のようになる。先ず脂肪を摂取すると膵臓から脂肪を消化する消化酵素リパーゼが分泌されるが、このときリパーゼの作用を助けるコリパーゼもいっしょに分泌されることが知られている。このコリパーゼは最初前駆体であるプロコリパーゼとして腸管内に分泌され、その一部（N-末端の5個のアミノ酸からなるペプチド）がはずれて出来たペプチドがエンテロスタチンであり、これが脳・中枢神経に働いて脂肪摂取を抑えるのであろうというものである。脂肪を食べればそれに応答してエンテロスタチン量も増えるであろうから、フィードバック作用になるので、魅力的な仮説である。本論文の第1章では合成されたエンテロスタチンの第3脳室への注入により高脂肪食の摂取が抑制されることを確かめることができた。第2章では、トリチウムでラベルされたエンテロスタチンをラットの尾静脈内に投与したとき、脳内に検出出来るか否かを検討し、微量ながら脳内に広く分布することを確認、エンテロスタチンが血液-脳関門を通過することを確認することができた。第3章では視床下部外側野にエンテロスタチンを投与したときセロトニン、ドーパミンが放出されることをマイクロダイアリシス法で確認することができ、これら神経伝達物質の関与を示唆することができた。第4章ではラベルされたエンテロスタチンを投与したとき、脂肪摂取条件によってどのような影響をうけるかを検討し、脂肪摂取により内在性エンテロスタチンの分泌がふえていることを類推する事が出来る結果を得ることができた。

これらの成績は、エンテロスタチン説を強く支持するものであった。

本論文はほとんどが脳・中枢神経系の実験であり、極めて困難な手法が多く、マイクロダイアリシスを駆使しての実験を着実に積み上げて、エンテロスタチン説を支持する結論を導き出したことは評価される。本論文は国際的に通用する内容であり、すべて英文で書かれている。

審査員一同は、学位を授与するにふさわしい論文であると判定した。