

氏 名	つち だ あつ し 土 田 敦 之
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	論 農 博 第 2435 号
学位授与の日付	平 成 14 年 7 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Action Mechanism of Brain-Derived Neurotrophic Factor in Regulating Glucose Metabolism. (脳由来神経栄養因子の糖代謝制御機構)
論文調査委員	(主 査) 教 授 吉 川 正 明 教 授 小 川 正 教 授 伏 木 亨

論 文 内 容 の 要 旨

神経栄養因子とは、中枢神経系、運動神経、および末梢神経系に広く作用し、神経系の発生・分化や機能維持に重要な役割を果たしている因子である。これまでに、神経栄養因子の一つである脳由来神経栄養因子 (Brain-Derived Neurotrophic Factor: BDNF) が、糖尿病動物の血糖値を低下させ、神経系に限らず内分泌系にも作用することが明らかにされている。本研究は、BDNF が糖尿病動物の糖代謝を正常化するメカニズムを明らかにするため、各種糖尿病モデル動物を用いて解析を行ったものであり、内容は次のように要約される。

1. BDNF のインスリンシグナル増強作用

遺伝的に肥満、インスリン抵抗性を呈する 2 型糖尿病マウスに BDNF を 2 週間皮下投与した後、インスリンを投与すると、肝臓、筋肉、および褐色脂肪組織における PI3 キナーゼの活性化が増強したことから、BDNF はこれら臓器においてインスリン感受性を増強することが示された。さらに、ストレプトゾトシン処置により膵臓ランゲルハンス氏島 β 細胞からのインスリン分泌を低下させた 1 型糖尿病マウスに、インスリン投与の 1 時間前に BDNF を皮下投与すると、肝臓におけるインスリン受容体のチロシンリン酸化と PI3 キナーゼの活性化が増強された。また、ごく少量の BDNF の脳室内投与によって、肝臓におけるインスリンによるインスリン受容体のチロシンリン酸化及び PI3 キナーゼの活性化が増強された。この時、IRS-2 と共沈する PI3 キナーゼ活性は増強したが、IRS-1 と共沈する PI3 キナーゼ活性には有意な増強は認められなかった。一方、末梢組織に対する直接作用の有無を検討する目的で、初代培養肝細胞を BDNF で処理したところ、インスリン受容体のチロシンリン酸化や PI3 キナーゼ活性には影響がなかった。以上より、BDNF は中枢を介して肝臓におけるインスリンシグナルを速効性に増強させ、血糖降下作用を示すことが示された。

2. BDNF の糖取込み促進作用

BDNF を 2 型糖尿病マウスに 2 週間皮下投与した後、 ^{14}C で標識した 2-デオキシグルコースを静脈内に投与し、各組織における ^{14}C -2-デオキシグルコース量の取込み量を測定した。その結果、肝臓、筋肉、および褐色脂肪組織への ^{14}C -2-デオキシグルコースの取込み量が増加した。同時に、これら組織中のノルエピネフリン (NE) 含量の増加が認められた。BDNF はインスリンシグナルを増強することにより、肝臓、筋肉、および褐色脂肪組織における糖の取込みを促進することが示唆され、その作用メカニズムの一つとして、交感神経系の関与が示唆された。

3. BDNF のエネルギー消費亢進作用

2 型糖尿病マウスでは絶食によって 24 時間以内に体温が低下するが、BDNF の末梢投与により体温は維持された。また、2 型糖尿病マウスを 15°C という寒冷条件下におくと、数時間以内に体温が低下するが、BDNF 投与により体温低下は認められなくなった。少量の BDNF を脳室内に投与した場合も体温低下が速効性に抑制された。次に、中枢を介した体温調節機構を解析するために、交感神経活性化の指標である NE の代謝回転と、脱共役蛋白 (UCP)-1 に対する BDNF の効果を調べた。BDNF を投与したマウスでは、褐色脂肪における NE の代謝回転と UCP-1 の発現が増加した。これらより、BDNF は交感神経系の活性化を介してエネルギー消費を促進し、そのことによって、血中から取込まれた糖は脂肪などに

蓄積されることがなく熱として体外に発散されることが示唆された。

4. BDNF の脂質代謝改善作用

肝臓などの末梢組織における中性脂肪の蓄積（脂肪毒性）がインスリン抵抗性の一因をなすことが提唱されている。そこで、肝臓の脂肪蓄積に対する BDNF の効果を調べた。2 型糖尿病マウスでは過剰なエネルギー摂取と代謝異常により脂肪肝、および高脂血症を呈しているが、BDNF を投与すると肝臓での脂肪蓄積が減少し、血中脂質濃度も低下した。BDNF がインスリン抵抗性を改善するメカニズムの一つとして、脂肪毒性の解除が考えられた。

以上より、BDNF の糖代謝調節機構として、中枢を介して、末梢組織のインスリンシグナル伝達を増強することにより糖取込みを増強すること、エネルギー代謝を亢進することにより糖消費を亢進すること、脂質代謝を改善することによりインスリン抵抗性を改善することが示された。

論文審査の結果の要旨

脳由来神経栄養因子（BDNF）は神経の発生・分化や機能維持に重要な役割を果たす神経栄養因子の一つである。BDNF は糖尿病動物の血糖値を正常化する作用を有するが、本論文は、そのメカニズムを明らかにするため、各種糖尿病モデル動物を用いた解析を多面的に行ったものである。成果として評価すべき点は以下の通りである。

1. BDNF のインスリンシグナル増強作用

2 型糖尿病マウスへの 2 週間の皮下投与により、BDNF は肝臓、筋肉、および褐色脂肪組織におけるインスリン感受性を増強することを明らかにした。1 型糖尿病マウスでは、インスリン投与 1 時間前の BDNF の皮下投与により、肝臓におけるインスリン受容体のチロシンリン酸化と PI3 キナーゼの活性化の増強が見られた。BDNF の脳室内投与の場合も、肝臓においてインスリンによるインスリン受容体のチロシンリン酸化及び PI3 キナーゼの活性化が増強され、中でも IRS-2 と共沈する PI3 キナーゼ活性のみが選択的に増強された。一方、初代培養肝細胞を用いた実験では、BDNF はインスリンシグナルに影響を与えなかったことから、BDNF は中枢を介して、肝臓におけるインスリンシグナルを増強し、血糖を低下させることが示された。

2. BDNF の糖取込み促進作用

2 型糖尿病マウスへの 2 週間の皮下投与により、BDNF は肝臓、筋肉、および褐色脂肪組織への糖取込みとノルエピネフリン（NE）含量を増加させることが示された。BDNF はインスリンシグナルを増強することにより、これら組織における糖取込みを促進することが判明し、その作用メカニズムの一つとして、交感神経系の関与が示唆された。

3. BDNF のエネルギー消費亢進作用

BDNF の皮下投与により、絶食や寒冷暴露に伴う 2 型糖尿病マウスの体温低下が妨げられた。BDNF の脳室内投与によっても同様の効果が見られた。さらに、BDNF の投与により、褐色脂肪での NE の代謝回転と脱共役蛋白（UCP）-1 の発現の増加が認められた。BDNF は交感神経系の活性化を介してエネルギー消費を促進すること、さらに、その血糖降下作用により血中から取込まれた糖が、熱として消費されることが示唆された。

4. BDNF の脂質代謝改善作用

BDNF の皮下投与により、2 型糖尿病マウスの肝臓における脂肪蓄積と高脂血症が改善された。BDNF は末梢組織における中性脂肪の蓄積を減少させることによって、インスリン抵抗性を改善することが示唆された。

以上のように、本論文は BDNF の糖代謝制御機構として、インスリンシグナル増強作用、エネルギー代謝促進作用、および脂質代謝改善作用を見出したものであり、食品生理機能学、食品分子機能学、および栄養化学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成14年5月10日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。