

京都大学	博士（医学）	氏 名	池田 弘毅
論文題目	Clock gene defect disrupts light-dependency of autonomic nerve activity (時計遺伝子の欠損は自律神経活動の光刺激依存性を破壊する)		
(論文内容の要旨)			
生物の生命現象には明暗周期などの約 24 時間周期の環境変化に同調する自己発振性の概日リズムが認められる。このリズムは光刺激によってリセットされる視床下部・視交叉上核により調節されており、時計遺伝子と呼ばれる一群の遺伝子が生物時計の本体であり、同遺伝子の分子機構に関する知見は徐々に集積されてきている。しかし、同遺伝子の自律神経系および代謝調節などへの関与については未だ詳細不明である。本研究では、全身の生物時計機能を消失させた <i>Cry1</i> および <i>Cry2</i> ダブルノックアウト(DKO) マウスを用いて、自律神経機能、代謝状態、膵 β 細胞インスリン分泌能およびインスリン抵抗性等の変化を検討し、時計遺伝子の自律神経系および代謝調節への関与について検討した。 DKO マウスは野生型マウスに比べ摂食量に変化はなかったが、腹腔内脂肪、皮下脂肪量および体重の有意な減少を認めた。組織学的には DKO マウス褐色脂肪細胞は脂肪滴が小さく、褐色脂肪細胞ミトコンドリアに多く存在し熱産生に関与する UCP1 の mRNA 発現量は、野生型マウスと比べて 2.3 倍上昇していた。明暗サイクル条件下でインダイレクト・カロリメトリーを用いた呼吸商および炭水化物消費量の検討では、DKO マウスと野生型マウスの間に有意差を認めなかった。また、活動期（暗期）の炭水化物消費量にも差がないことなどから、同条件下で DKO マウスの活動リズムは正常に保たれていることが判明した。一方、DKO マウスの非活動期（明期）の酸素消費量は有意に上昇しており、基礎エネルギー消費の亢進が示唆された。これらの結果から DKO マウスにおける体脂肪量の減少は、活動とは無関係なエネルギー消費の亢進によることが示唆された。 DKO マウスの代謝亢進メカニズムを検討するため、明暗サイクル条件下でテレメトリーシステムを用いてマウス体温および心拍数を検討した。野生型マウスでは体温および心拍数ともに明期と比して暗期で高い傾向を示したが、DKO マウスではこれらの日内変動は消失しており、体温、心拍数ともに明期・暗期を問わず常に高い状態であった。明期での DKO マウスの体温、心拍数の上昇メカニズムに関して交感神経系の関与を検討する目的で、β ブロッカープロプラノロール投与により変化を検討した。同薬投与により、DKO マウスでは野生型マウスと同程度までの心拍数低下が認められ、明期における DKO マウスの心拍数上昇は、交感神経系の亢進が原因であることが明らかとなった。ブドウ糖負荷試験によりインスリン分泌能への影響を検討したところ、DKO マウスでは耐糖能の異常を認め、インスリン初期分泌の低下が認められた。一方、交感神経系遮断状態でのマウス膵灌流実験において、ブドウ糖刺激によるインスリン分泌総量に有意差を認めなかったことから、DKO マウスにおけるインスリン分泌能低下が交感神経系の活性化によるものであることが示唆された。更にインスリン負荷試験により、DKO マウスでは、体脂肪量減少を反映してインスリンの感受性の亢進が認められたが、結果的には DKO マウスが耐糖能異常を認めたことから、インスリン分泌能の低下がインスリン感受性の亢進を上回って影響したと考えられた。これらの結果から、時計遺伝子 <i>Cry1</i> および <i>Cry2</i> は、通常状態では交感神経系活性を抑制し自律神経系機能調節に関与していると考えられるが、その破綻により体重、体脂肪量、インスリン分泌能およびインスリン抵抗性に影響を及ぼしうることが明かとなった。			

（論文審査の結果の要旨） 生理現象には約24時間周期のリズムが認められるが、それは一群の時計遺伝子によって作り出されるものであり、これらの分子機構に関する知見は徐々に集積されてきている。しかし、これらの自律神経系、代謝調節への関与については未だ不明である。 申請者は、全身の生物時計機能が消失した時計遺伝子Cry1,Cry2ダブルノックアウトマウス(DKO)を用い解析を行った。DKOは、野生型マウスに比べ摂食量に変化はなかったが、体重、体脂肪量の有意な減少を認めた。明暗サイクルでは活動リズムは正常であったが、非活動期でも酸素消費量は有意に上昇し基礎代謝の充進が認められたことから、体脂肪量の減少は活動リズムとは無関係なエネルギー消費の充進によることが示唆された。明暗サイクルで体温、心拍数ともに日内変動は消失し、常に高い状態であった。β ブロッカー投与にて心拍数が低下したことより、交感神経系の充進がこれらの原因であることが明らかとなった。また、インスリン分泌低下による耐糖能障害も認めた。 生物時計の消失は自律神経系の障害をもたらしており、代謝の概日リズムを消失させ、インスリン分泌低下も含め様々な代謝の障害を引き起こしていることが考えられる。 正常な体内リズムを保つことが、適切な糖代謝調節維持において重要であることが示唆された。 以上の研究は、時計遺伝子の自律神経系、代謝調節への関与の解明に貢献し、代謝学の発展に寄与するところが多い。 したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものとみとめる。 なお、本学位授与申請者は、平成20年5月30日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			