

氏 名	しば くさ てつ ろう 柴 草 哲 朗
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1641 号
学位授与の日付	平 成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 食 品 生 物 学 専 攻
学位論文題目	Regulatory mechanism of energy metabolism by TGF- β in the brain during exercise (脳内 TGF- β による運動時の中枢性エネルギー代謝調節機序の解明)
論文調査委員	(主 査) 教 授 伏 木 亨 教 授 井 上 國 世 教 授 河 田 照 雄

論 文 内 容 の 要 旨

穏やかな持久運動では、運動時間が長くなるとエネルギー源として主に糖質を利用する状態から脂肪を利用する状態に変化する。これまで持久運動時のエネルギー基質選択を調節する機構の研究のほとんどが末梢組織における調節機構をターゲットとしていた。本論文は、運動時のエネルギー基質利用には中枢神経系を介した調節が関与していると考え、動物の運動モデルを独自に構築し、脳内の特定のサイトカインの濃度変化が末梢のエネルギー代謝調節に関与していることを示唆したものである。その内容は次のように要約できる。

1. 下肢筋電気刺激によるシミュレーション運動時のエネルギー基質濃度変化の解析

ラット下肢筋を電気刺激することによって筋収縮を引き起こす運動システム（電気刺激運動）を構築し、運動時と TGF- β 脳室内投与時のエネルギー代謝変化を比較した。麻酔下のラット下肢筋への 2 から 5 Hz の電気刺激運動では、運動開始直後から呼吸交換比が上昇し、電気刺激の継続とともに低下した。酸素消費量、心拍数、血中乳酸濃度、血糖値、血中遊離脂肪酸（NEFA）およびケトン体濃度、ならびに血中ノルアドレナリン濃度はいずれも穏やかな持久運動を長時間継続した場合と類似の変化を示した。これらの結果より、ラットの下肢筋への電気刺激運動が持続的な運動時と同様のエネルギー代謝基質変動を引き起こすことを示した。

2. TGF- β 脳室内投与によるエネルギー基質フラックスの変化

右心房血・肝静脈血・下大静脈血が同時に採血できるようにラット血管に細いチューブを挿入した。このラットを用いて電気刺激運動時の各部位でのエネルギー基質 flux の変化を経時的に調べた。2 Hz の電気刺激では開始直後から下半身からの乳酸放出および肝臓からのグルコース放出が増大し、運動の継続とともに肝臓からのケトン体放出および下半身からの NEFA 放出が増大した。脳脊髄液中では電気刺激開始10分後に活性型 TGF- β 濃度の有意な増大が見られた。これらの結果は、運動の継続に伴ってケトン体・NEFA の生成が増加するのと同じタイミングで脳脊髄液中 TGF- β 濃度が増大することを示している。TGF- β をラット脳室内に投与すると、電気刺激運動を負荷しない状態でも肝臓からのケトン体放出の増大、下半身からの NEFA 放出の増大傾向および全血中 NEFA 濃度の増大が見られた。これらの結果から電気刺激運動によるエネルギー基質フラックスの変化の少なくとも一部に脳内 TGF- β の濃度上昇が関与していることを示唆した。

3. TGF- β 脳室内投与後のマロニル CoA 量の変化

TGF- β の脳室内投与による肝臓からのケトン体放出の増大は、脳室内に投与した TGF- β が肝臓での脂肪酸の酸化を促進した結果であると考えられる。このことを確かめるために、脂肪酸代謝の生化学的指標である組織中マロニル CoA 量を測定した。TGF- β 脳室内投与によりラット肝臓のマロニル CoA 量が有意に低下し、脂肪酸の酸化が促進されていることが明らかになった。

4. 抗 TGF- β 抗体および TGF- β 受容体特異的アンタゴニストを用いた検討

あらかじめ抗 TGF- β 抗体をラットの大槽内に投与し、脳内 TGF- β の作用を阻害した状態で低強度および中強度のトレ

ッドミル走行 (21 m/min) を負荷し、呼気ガス分析により代謝状態を解析した。運動の継続に伴う呼吸交換比の低下が抗 TGF- β 抗体投与群で抑制され、エネルギー源としての脂肪の酸化が抑制されていることを示した。血液中のケトン体および NEFA 濃度も抗 TGF- β 抗体投与群で対照群と比較して有意に低値を示した。さらに TGF- β レセプター 1 (TbR1) の特異的アンタゴニストである SB-431542 を用いて同様の実験を行ったところ、抗 TGF- β 抗体を用いた場合と同じく呼吸交換比の低下が抑制された。これらの結果から、脳内の TGF- β は運動時の脂肪代謝調節に関与していること、また少なくとも一部は TbR1 シグナル伝達系を介していることを示した。

5. コルチコトロピン放出因子 (CRF) レセプター拮抗阻害剤を用いた検討

運動時のエネルギー代謝変化がストレスによって脳内に分泌される CRF によって惹起される可能性は否定できない。そこで CRF レセプターの拮抗阻害剤である astressin をラットの大槽内に投与し、トレッドミルと呼気ガス分析装置を用いて同様の実験を行ったところ、astressin 投与群と対照群との間で呼吸交換比に有意な差は見られなかった。CRF 投与による副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) 放出は、astressin の前投与で約 50% に抑えられていることも確認した。これらの結果から、脳内の CRF は本論文で検討した運動時のエネルギー代謝調節には関与していないことを示した。

論文審査の結果の要旨

持久運動においては運動中にエネルギー源が糖質から脂肪に劇的に変化する。筋肉や肝臓など末梢組織の代謝変化が解析されてきたが、そのメカニズムは未だ解明されていなかった。本論文は、運動時のエネルギー基質選択の変化に脳内物質を介した調節が重要であると考え、動物の運動モデルを用いて脳内の特定のサイトカインの濃度変化が末梢のエネルギー代謝調節に関与していることを示したものである。評価できる主な成果は以下の通りである。

1. 下肢筋電気刺激による運動時のエネルギー基質濃度変化の解析

ラット下肢筋を電気刺激することによって筋収縮を引き起こす運動システム (電気刺激運動) を構築した。この系を用いたラットの下肢筋への長時間の電気刺激が持続的な運動時と同様のエネルギー代謝基質変動を引き起こすことを示した。

2. TGF- β 脳室内投与によるエネルギー基質フラックスの変化

ラット下肢筋に 2 Hz の電気刺激を与えたところ、最初は下肢からの乳酸放出および肝臓からのグルコース放出が増大し、刺激の継続によって肝臓からのケトン体放出および下半身からの NEFA 放出が増大した。同時に、脳脊髄液中の TGF- β 濃度が上昇した。一方、TGF- β の脳室内投与によりケトン体と遊離脂肪酸の動員が増大し、肝臓において脂肪酸化亢進の指標であるマロニル CoA 濃度の低下が生じることを示した。

3. 抗 TGF- β 抗体および TGF- β 受容体特異的アンタゴニストを用いた検討

抗 TGF- β 抗体および TGF- β レセプター 1 (TbR1) の特異的アンタゴニストである SB-431542 をラットの大槽内に投与した実験で、エネルギー源としての脂肪の酸化が抑制されていることを示した。血液中のケトン体および遊離脂肪酸濃度の変化のデータとあわせて、脳内の TGF- β は運動時の脂肪代謝調節に関与していること、また少なくとも一部は TbR1 シグナル伝達系を介していることを示した。

4. コルチコトロピン放出因子 (CRF) レセプター拮抗阻害剤を用いた検討

脳内の CRF は持久運動時のエネルギー代謝に関与しないことを示した。

以上のように、本論文は、持久運動時にエネルギー基質が糖質から脂肪に変化するプロセスには脳と肝臓との連携が重要であり、脳内 TGF- β がその信号伝達の一部を担っていることを示したものであり、栄養科学、運動生理学、動物行動学、食品健康科学の発展に寄与するところが多い。

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 19 年 2 月 15 日、論文なら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。