The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Reciprocal regulation of natriuretic peptide receptors by insulin in adipose cells
Author(s)	中辻, 秀朗
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58185
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【61】

氏　　名	中　辻　秀　朗（なか　つじ　ひで　あき）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　24383　号
学位授与年月日	平成23年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学　位　論　文　名	Reciprocal regulation of natriuretic peptide receptors by insulin in adipose cells （脂肪細胞におけるナトリウム利尿ペプチド受容体のインスリンによる調節）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　下村伊一郎 （副査） 教　授　楽木　宏実　　教　授　森下　竜一

論　文　内　容　の　要　旨

〔　目　　的　〕

心房性、脳性ナトリウム利尿ペプチド（ANP、BNP）は、様々な生理学的作用を有するが、脂肪細胞において細胞内cGMP上昇により脂肪分解作用を持つことが示されている。これらの生理的作用はナトリウム利尿ペプチド受容体（NPRs）のファミリーであるNPR-1、NPR-2、NPR-3によって調節されている。ANP、BNPはNPR-1に結合し、CNPはNPR-2に結合する。NPR-1とNPR-2はNPR-A/GC-A、NPR-B/GC-Bとも呼ばれるグアニル酸シクラーゼ受容体であり、一方でNPR-3（NPR-C）は主に酵素活性や機能を持たないクリアランス受容体である。ANPは他の利尿ペプチドに比べNPR-1とNPR-3に高い親和性を持ち、一方でCNPは主としてNPR-2に結合する。このことから、ANPの作用はNPR-1、NPR-3発現の局所的なバランスに影響される可能性がある。しかしながら脂肪細胞におけるNPRsの発現調節は完全に明らかではなかった。本研究ではマウス脂肪組織におけるNPRs発現調節を、インスリンに注目して調べた。

〔　方法ならびに成績　〕

C57BL/6Jマウスにおいて、NPRs mRNA発現レベルの組織分布を調べた。NPR-1およびNPR-3 mRNA発現量は、白色脂肪組織に多くみられ、特に白色脂肪組織NPR-3 mRNA発現は他臓器に比して極めて高値であった。一方、ANP、BNPの分解酵素であるNeutral endopeptidaseのmRNAレベルは白色脂肪組織にも存在したがわずかであった。そのため我々は様々な栄養状態下におけるマウス白色脂肪組織のNPRs mRNAレベルの変化を調べた。まず絶食状態(Fast)と随時摂食状態(Adlib)における比較を行った。Fastでの血漿インスリン濃度は、Adlibに比べ有意に低値であった(Fast: 0.175 ± 0.118ng/mL、Adlib: 0.975 ± 0.197ng/mL, p=0.05, n=4)。血漿グルコース濃度もまたAdlibに比しFastで有意に低値であった。白色脂肪組織におけるNPR-1、NPR-2 mRNAレベルはAdlibに比してFastで有意に高値であり、一方NPR-3 mRNAレベルはAdlibに比してFastで著明に低値であった。次にインスリン枯渇モデルとしてStreptozotocin投与マウス(STZ)を作成し解析した。STZの血漿インスリン濃度はStreptozotocin非投与対照マウス(Cont)に比して有意に低値であった(STZ: 0.004±0.004ng/mL、Cont: 0.737 ± 0.071ng/mL、$p<0.0001$, n=6)。血漿グルコース濃度はSTZでContに比し有意に高値であった(STZ 749.4±61.0mg/dL、Cont: 160.3±2.9mg/dL、$p<0.0001$、n=6)。白色脂肪組織NPR-1 mRNAレベルはContに比しSTZで有意に高値であり、一方、NPR-3 mRNAレベルはContに比しSTZで著明に低値であった。NPR-2 mRNAレベルにおいてはこれらのマウスで有意な差はみられなかった。次に高インスリン血症肥満モデルとして7週齢雄性*ob/ob*マウス(*ob/ob*)、非肥満対照マウスとして同週齢の雄性C57BL/6Jマウス(C57BL)を用いた。血漿インスリン濃度はC57BLに比べ*ob/ob*で有意に高値であった(*ob/ob*: 32.200±4.863ng/mL、C57BL: 0.975±0.197 ng/mL、$p<0.001$、n=4)。　血漿グルコース濃度はC57BLに比べ*ob/ob*で有意に高値であった（*ob/ob*: 275.4±38.3mg/dL、C57BL: 135.3±4.4mg/dL、$p<0.05$, n=4)。脂肪組織NPR-1、NPR-2 mRNAレベルはC57BLに比べ*ob/ob*で有意に低値であり、一方、NPR-3 mRNAレベルはC57BLに比べ*ob/ob*で有意に高値であった。

以上の結果から、インスリンが脂肪細胞のNPR-1を負の方向に、NPR-3を正の方向に調節している可能性を考えた。そこで分化3T3-L1脂肪細胞を用いてNPR-1、NPR-3 mRNAのインスリンによる発現制御を調べた。脂肪細胞分化の過程でNPR-1 mRNAレベルは変化しなかったが、NPR-3 mRNAレベルは分化とともに増加した。様々な濃度のインスリン（10^{-12}M～10^{-9}M）による影響を調べた。NPR-1 mRNAレベルは10^{-12}Mインスリン添加で著明に低下し、その効果は10^{-9}Mまで同様に見られた。NPR-3 mRNAレベルはインスリン濃度依存的に増加した。また10^{-9}Mのインスリン添加によるNPR-1、NPR-3 mRNAレベルの時間依存性の変化を調べた。NPR-1 mRNAレベルはインスリン添加3時間で有意に減少し、その効果は12時間後までみられた。NPR-3 mRNAレベルはインスリン添加1時間より増加し、3時間をピークに、12時間後まで有意な増加がみられた。インスリンがMitogen-activated protein-kinaseとPhosphatidylinositol 3 (PI3)-kinaseの2つのシグナル経路を活性化させることはよく知られている。NPR-1、NPR-3 mRNAレベルに影響を与えるインスリンシグナルがいずれの経路に関連しているかを明らかにするため、各々のシグナル経路阻害剤であるLY294002とPD98059を用いた。インスリンはNPR-1 mRNAレベルを減少させたが、その減少はPD98059によっては改善しなかった。しかしLY294002によってインスリンのNPR-1 mRNAレベル減少効果は有意に阻害された。同様に、NPR-3 mRNAレベルはインスリンにより増加し、この効果はPD98059によっては影響されなかった。一方、インスリンによるNPR-3 mRNAレベル上昇効果はLY294002によって有意に抑制された。これらの結果から、インスリンはPI3-kinase経路を介してNPR-1 mRNAレベルを減少、NPR-3 mRNAレベルを増加させることが示唆された。

〔　総　　括　〕

以上より、脂肪細胞においてANP、BNPの作用レセプターであるNPR-1はインスリンにより負の方向に、クリアランスレセプターであるNPR-3はインスリンにより正の方向に発現調節されており、ともにPI3-kinase経路を介していることが明らかになった。

論文審査の結果の要旨

申請者　中辻秀朗は脂肪細胞におけるナトリウム利尿ペプチド受容体の発現調節を検討した。

ナトリウム利尿ペプチド（NP）であるANP、BNPは脂肪分解作用を有していることが示されてきた。また肥満状態においては血中ANP、BNPが低下していることが知られている。しかしその受容体であるNPRsの脂肪細胞における発現制御は十分解明されていなかった。

本研究は、①ANP、BNPのクリアランスレセプターであるNPR-3が、他臓器に比して、白色脂肪組織で高発現していること、②肥満マウスの白色脂肪組織ではさらにNPR-3の発現が上昇していること、③脂肪細胞において、インスリンによりPI3キナーゼ経路を介して、作用レセプターであるNPR-1は負の方向に、NPR-3は正の方向に調節されることを、初めて明らかにした。

これまでにANP、BNPは脂肪細胞に作用し、アディポネクチン上昇作用を有していることが示されていることから、肥満状態における低アディポネクチン血症の一因に、脂肪細胞NPR-3の上昇とNPR-1の低下が関与している可能性が本研究により示唆された。

よって、中辻秀朗の功績は、学位の授与に値すると考えられる。