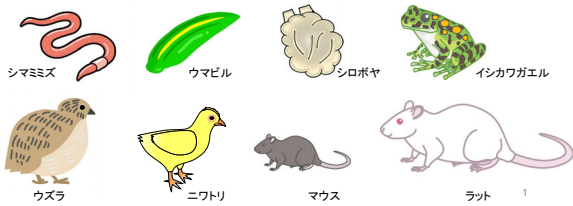


新規神経ペプチドの同定と生理機能に関する研究

うけな
浮穴和義

広島大学 大学院統合生命科学研究科・総合科学部



謝辞 (敬称略、順不同)

- 筒井和義 (広島大・早稲田大)
松島 治 (広島大)
宗岡洋二郎 (広島大)
石居 進 (早稲田大)
菊山 榮 (早稲田大)
橋 哲也 (愛媛大)
南方宏之 (サントリー生科財団)
佐竹 炎 (サントリー生科財団)
安東宏徳 (新潟大)
- Lance Kriegsfeld (UC Berkeley)
George Bentley (UC Berkeley)
John Wingfield (UC Davis)
Peter Sharp (Roslin Inst.)
Hubert Vaudry (U Rouen)
- 筑越靖彦 (生理研)
岡本士毅 (生理研・琉球大)
佐々木 努 (群馬大・京都大)
宮里幹也 (国立循環研)
村上 昇 (宮崎大)
井田隆徳 (宮崎大)
伊達 紫 (宮崎大)
秋枝さやか (宮崎大)
- (広島大)
住田正幸
彦塚 暁
森下文浩
古川康雄
斎藤祐見子
高瀬 稔
山本 卓
安藤正昭
佐藤明子
小林勇喜
- 学会・研究会関係者の先生方・研究室の卒業生

浮穴研究室メンバー 現在

- 岩越栄子
古瀬芽久美
成松勇樹
加藤正輝
森脇剛輝
中尾ゆき
- 過去の在籍者
福村圭介
鹿野健史朗
森田恵子
谷内秀輔
前崎 翔
近藤郭裕
別所裕紀
松浦大智
越智太智
齋藤直也
門田博希
内藤万葉
三村朱花
新福寛海
大山晴香
田中美恵
大口悦宏
佐藤瑞奈
佐藤真実
山崎玲子
後藤香葉

浮穴 略歴

- 1994年3月 広島大学理学部生物学科動物学専攻 卒業
- 1996年3月 広島大学大学院理学研究科生物学専攻博士課程前期 修了
- 1998年3月 広島大学大学院生物圏科学研究科博士課程後期 2年次終了時中途退学(助手採用のため)
- 1998年4月 広島大学総合科学部 助手
- 1999年3月 博士号(学術)取得
- 2005年4月 広島大学総合科学部 助教授
- 2006年4月 広島大学大学院総合科学研究科 助教授(大学院講座化による。翌年より職名変更により准教授)
- 2006年9月 Principal Investigator (PI, 研究室主宰者)
- 2013年2月 広島大学 特により優れた研究を行う若手教員 (Distinguished Researcher, DR)
- 2016年2月 広島大学大学院総合科学研究科 教授
- 2016年8月 University of California, Berkeley校 Visiting Professor (2017年9月まで、科研費・国際共同研究)
- 2018年11月 広島大学 特により優れた研究を行う教授職 (Distinguished Professor, DP) (任期は2028年3月まで)
- 2019年4月 広島大学大学院統合生命科学研究科 教授(新研究科設置のため配属)

高校時代の興味

快楽物質エンドルフィン (日本語) 1987/5/1
ジョエル・テイビス (著), 安田 宏 (翻訳)
青土社



ハハマオニゲシ
Papaver bracteatum
東京都薬用植物園HPより

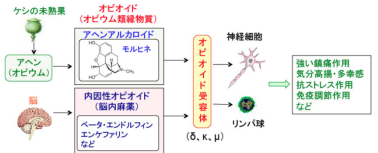


図: オピオイド (オピウム) にはアヘンアルカロイド (モルヒネなど) とが内因性オピオイド (ベータ-エンドルフィンやエンケファリンなど) があり細胞のオピオイド受容体 (δ, κ, μ) に結合して作用を発揮する。内因性オピオイドは中枢神経系に作用して鎮痛作用や多量分泌を引き起こし、脳内の神経系にも関与している。脳内麻薬とも呼ばれている。

<http://www.f-qtc.or.jp/OGF/OGF.html>
銀座東京クリニックHPより

これまでの主な研究履歴

- 卒論及びマスターコースの3年間
環形動物の生理活性ペプチド、後葉ホルモン
- ドクターコースの2年間
ニューロステロイド (博士論文)
- 助手時代 (7年間)
神経ペプチドとニューロステロイド
独自テーマの探索 (浸透圧ストレス応答タンパク質)
- 独立研究室 (16年前～)
ホヤの後葉ホルモン、鳥類を使ったマイクロアレイ・サブトラクション
カエルの抗菌ペプチド
鳥類の新規エネルギー代謝調節因子の探索と機能解析



松島治先生

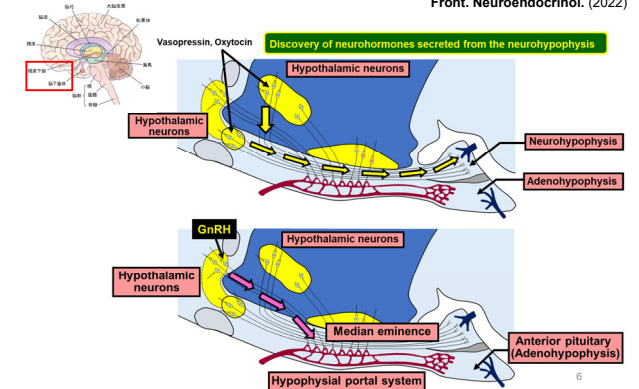


筒井和義先生



宗岡洋二郎先生

神経内分泌学

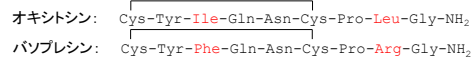


Tsutsui, Ubuka, Ukena.
Front. Neuroendocrinol. (2022)

脳下垂体後葉について

- 脳下垂体後葉 (神経葉) ホルモンは視床下部の神経分泌細胞で合成され、脳下垂体後葉から一般血液循環系に放出される。
- オキシトシンとバソプレシンがある。どちらも9残基のアミノ酸残基からなる。

ニューロンがホルモンを分泌する (神経内分泌)

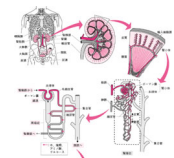
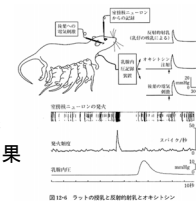


オキシトシンの作用

- 子宮に作用し、分娩時の子宮筋収縮効果
- 乳腺に作用し、授乳時の射乳反射促進効果

バソプレシンの作用

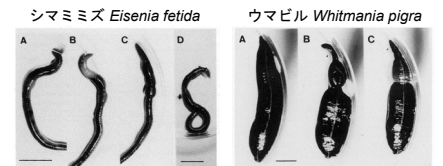
- 水分保持のために腎臓に作用し、水分が失われないように働く (利尿作用)



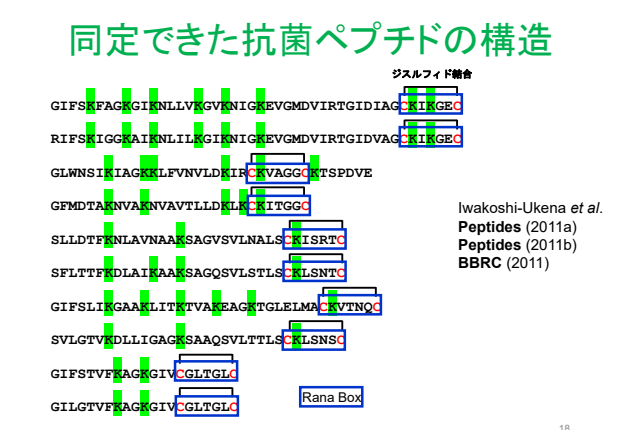
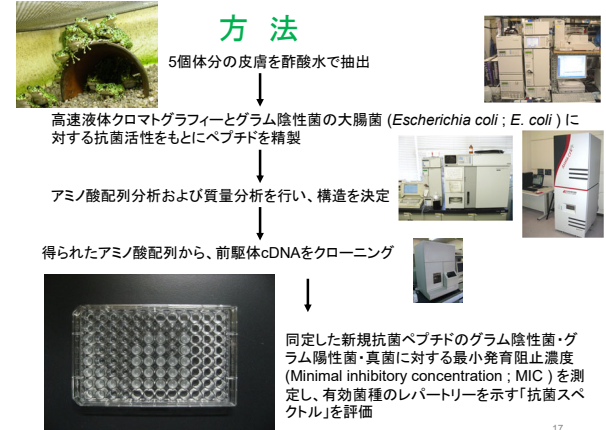
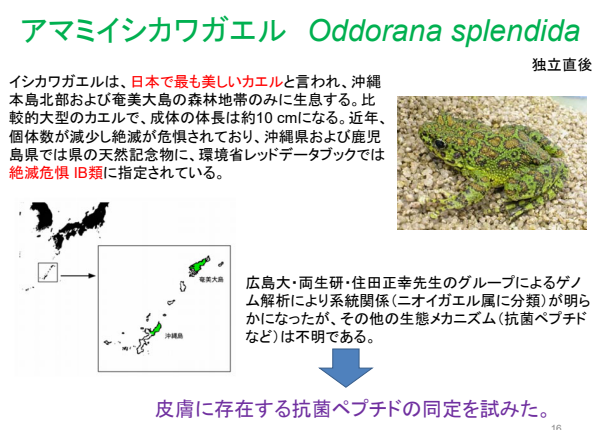
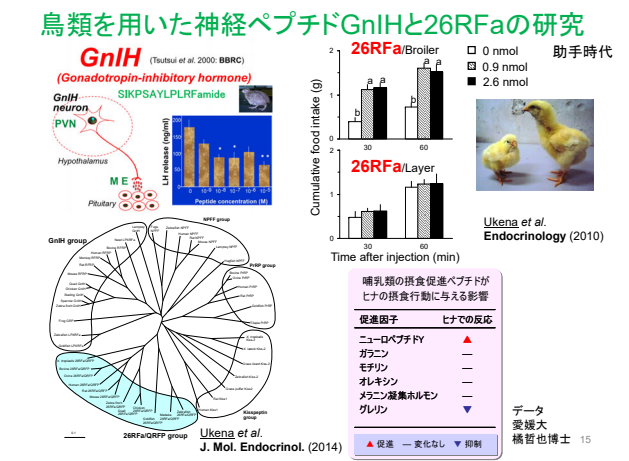
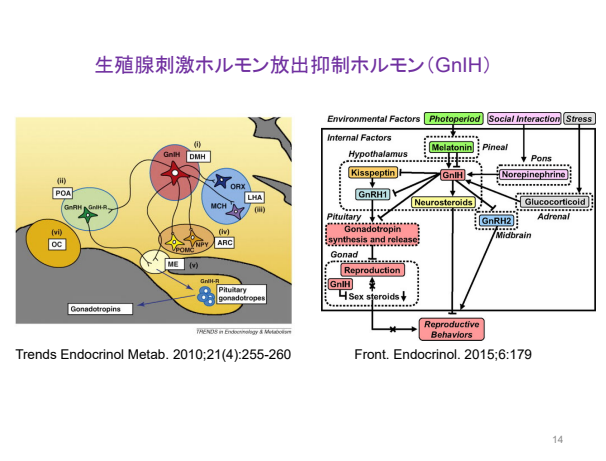
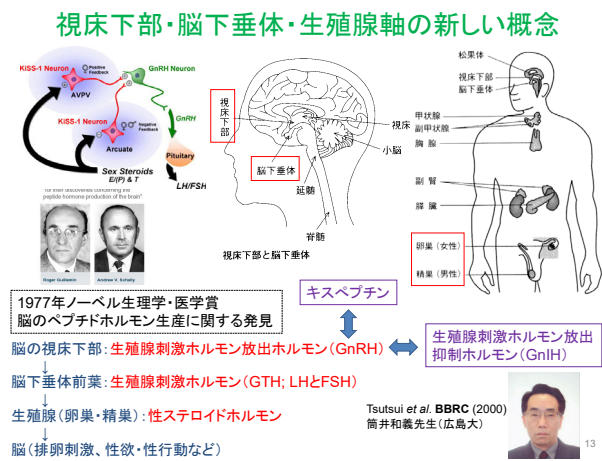
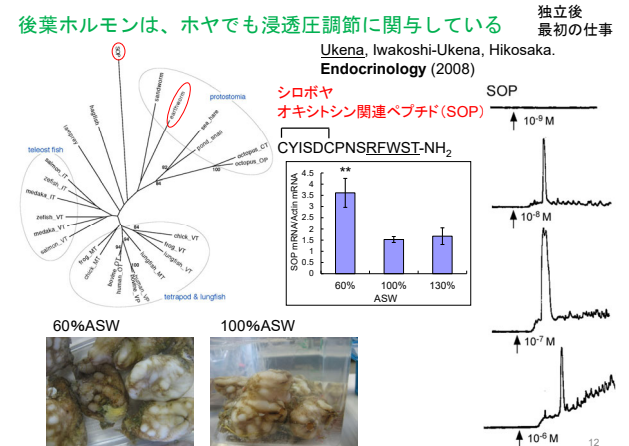
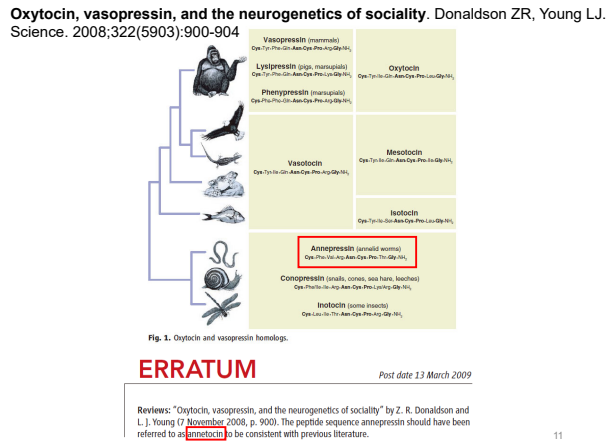
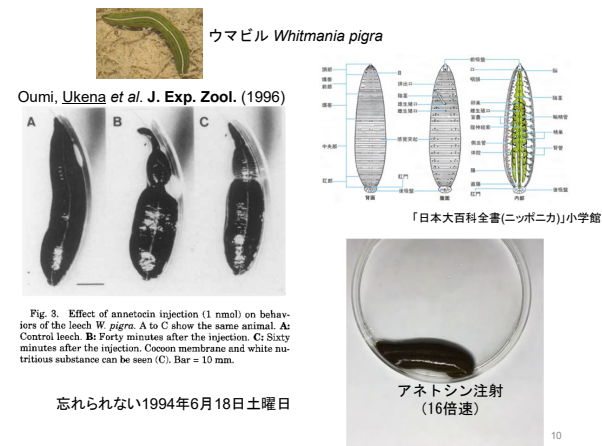
「基礎から学ぶ生物学・細胞生物学」
羊土社

後葉ホルモンは、ミズやヒルでも産卵行動を引き起こす

環形動物 Annetocin CFVRCPTG-NH₂ 広島大学理学部 卒論・マスターコース時代 発見・命名



Oumi, Ukena et al. *BBRC* (1994)
Ukena et al. *Peptides* (1995)
Ukena et al. *J. Exp. Zool.* (1995)
Ukena et al. *Acta Biol. Hung.* (1995)
Oumi, Ukena et al. *BBRC* (1995)
Ukena et al. *Comp. Biochem. Physiol.* (1996)
Oumi, Ukena et al. *J. Exp. Zool.* (1996)
Ukena et al. *Cell Tissue Res.* (1997)



NPGLの生理作用・生理的意義は何か？



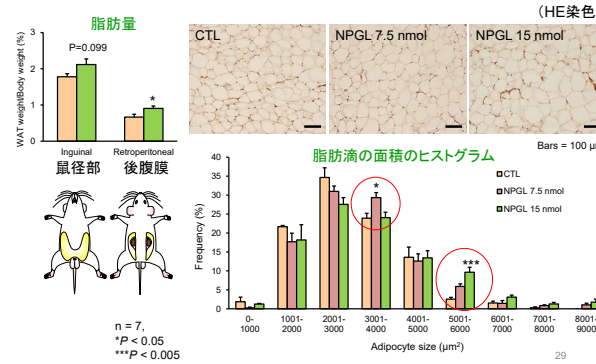
- 8週齢の♂ラットを使用
- NPGLまたはNPGL抗体を2週間、ラットの脳室内へ慢性投与
- NPGL遺伝子を約1.5ヶ月間、ラットの視床下部で過剰発現

- 体重、摂食量、脂肪等の体組成測定
- 呼吸代謝の測定
- 肝臓や脂肪組織での遺伝子発現・形態学的解析

28

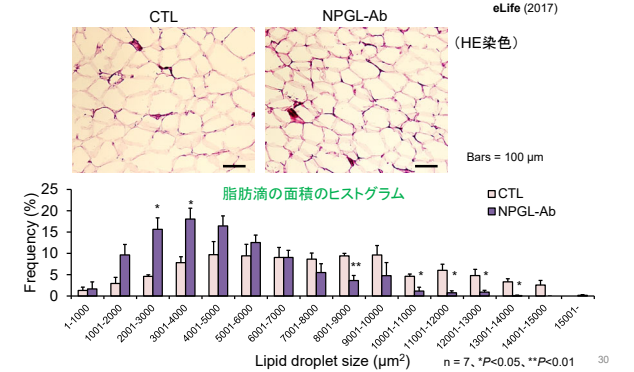
NPGLを2週間脳室内へ慢性投与すると、濃度依存的に白色脂肪細胞が肥大化した

Iwakoshi-Ukena et al. eLife (2017)



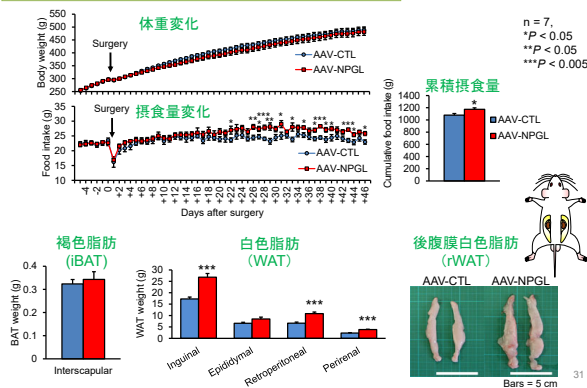
NPGL抗体を脳室内に2週間慢性投与すると、白色脂肪組織における脂肪細胞の肥大化を妨げた

Iwakoshi-Ukena et al. eLife (2017)



NPGL遺伝子を1.5ヶ月間過剰発現させると、白色脂肪組織において脂肪蓄積が促進した

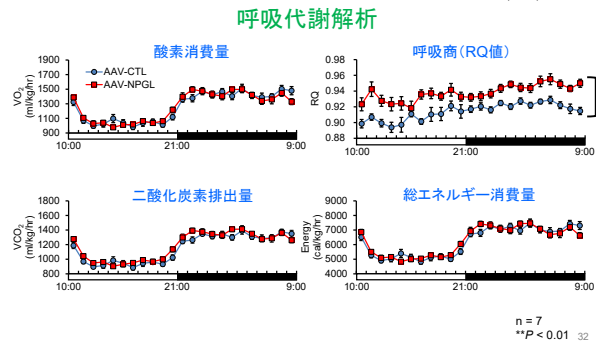
Iwakoshi-Ukena et al. eLife (2017)



31

NPGL遺伝子を1.5ヶ月間過剰発現させると、RQ値の増加が認められた

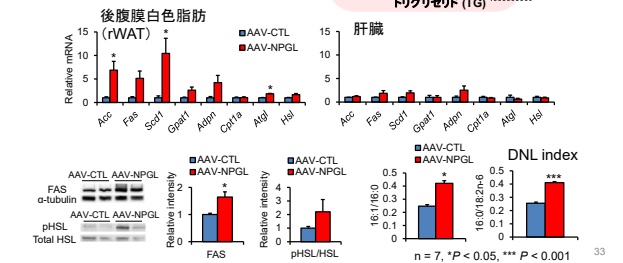
Iwakoshi-Ukena et al. eLife (2017)



NPGL遺伝子を1.5ヶ月間過剰発現させると、脂肪組織において、de novo脂肪合成の亢進が生じていた

Iwakoshi-Ukena et al. eLife (2017)

脂肪合成・酸化酵素の解析



33

マクロ栄養素飼料 (タンパク質食、炭水化物食、脂肪食) 選択給餌下で、NPGLを脳室内へ慢性投与した

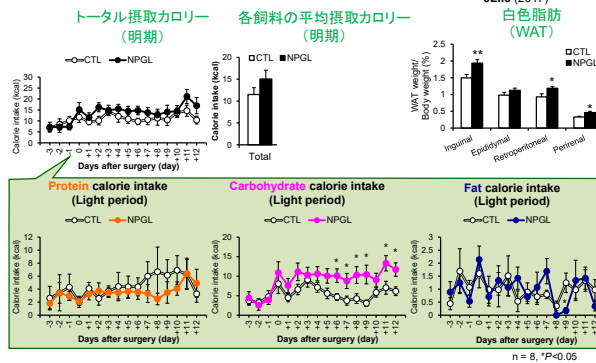
飼料	タンパク質食	炭水化物食 (高ショ糖)	脂肪食
	kcal %	kcal %	kcal %
タンパク質	99	0	0
炭水化物 (ショ糖)	1 (1)	100 (41)	1 (1)
脂肪	0	0	99



34

NPGLはマクロ栄養素飼料選択給餌下において炭水化物食 (高ショ糖) の摂食量を増加させた

Iwakoshi-Ukena et al. eLife (2017)

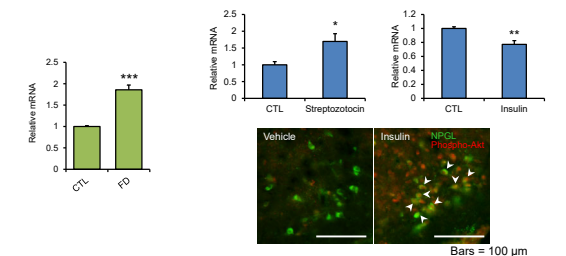


35

NPGLの合成は絶食により増加した

さらに、インスリン低下により増加し、逆にインスリン投与で低下した

Iwakoshi-Ukena et al. eLife (2017)

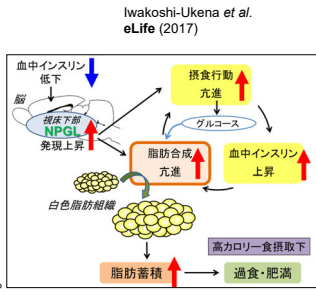


NPGL産生細胞は空腹状態やインスリンを感知する

36

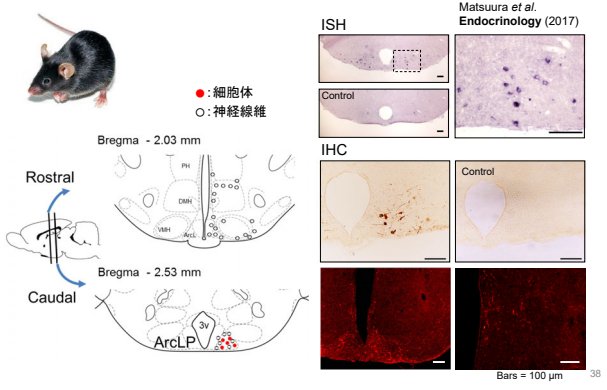
ラットのデータによる考察

- 栄養状態が悪い場合:
インスリンの低下が脳に伝わり、NPGL産生が高まり、摂食行動を促進させる。
- 栄養状態が良い場合:
食餌由来の脂肪を蓄えるのではなく、新たに生体内で脂肪合成 (de novo脂肪合成) を亢進させ、脂肪として蓄えさせる働きがある。

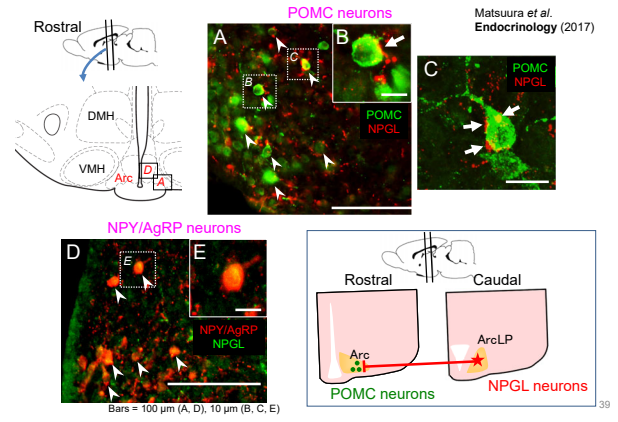


飢餓への対抗・備え

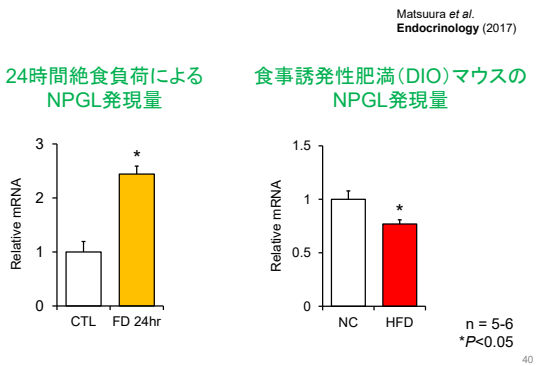
マウスにおいて、NPGLは弓状核尾側部の細胞で作られ、視床下部領域に作用することが示唆された



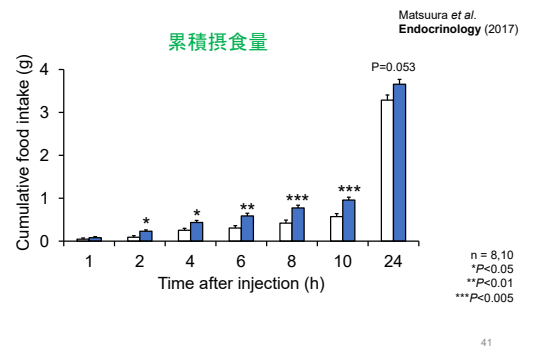
NPGLはPOMCニューロンに投射することが示唆された



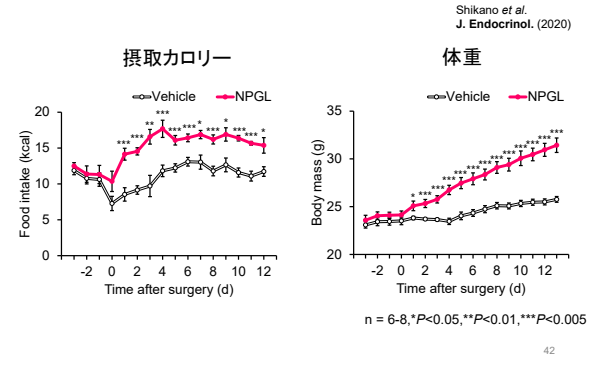
NPGLは絶食負荷により発現量が増加し、食事誘発性肥満状態で発現量が減少した



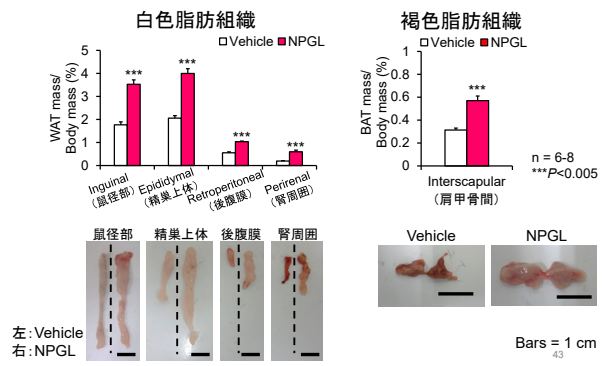
マウスの脳室内にNPGLを急性投与すると摂食量が増加した



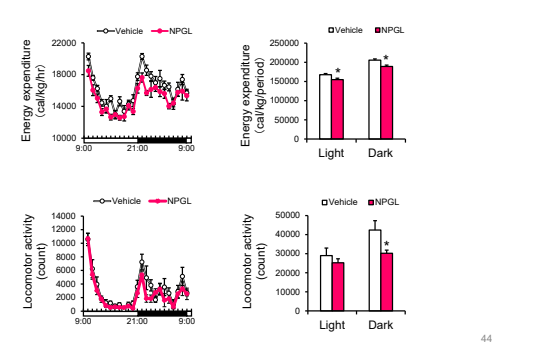
マウスの脳室内にNPGLを慢性投与すると摂食量と体重が顕著に増加した



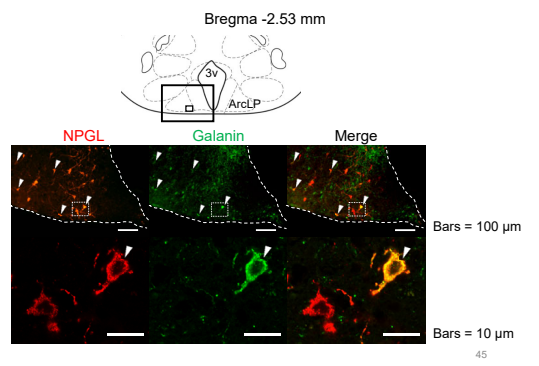
マウスの脳室内にNPGLを慢性投与すると脂肪組織重量が増加した



マウスの脳室内にNPGLを慢性投与するとエネルギー消費量と活動量が減少した

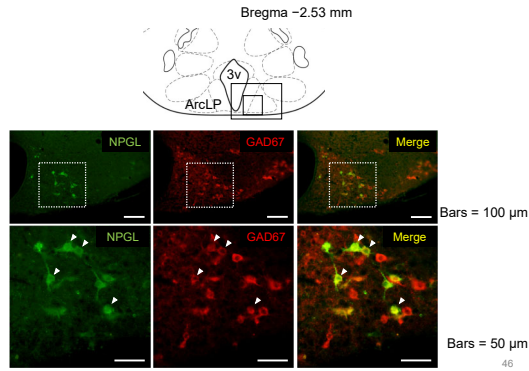


NPGLとガラニンが同一細胞で産生されるニューロンが存在する



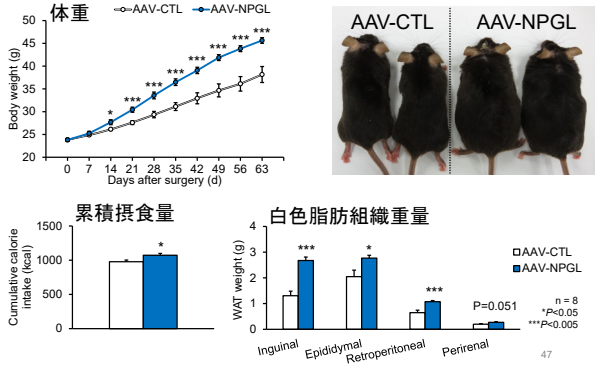
NPGLとGABAが同一細胞で産生されるニューロンが存在する

Naito et al. Biomedicines (2022)

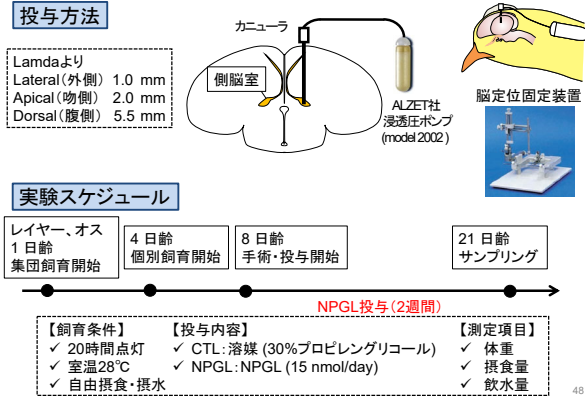


NPGL遺伝子を2ヶ月間過剰発現させると、肥満を惹起した

Narimatsu et al. Neuroendocrinology (2022)

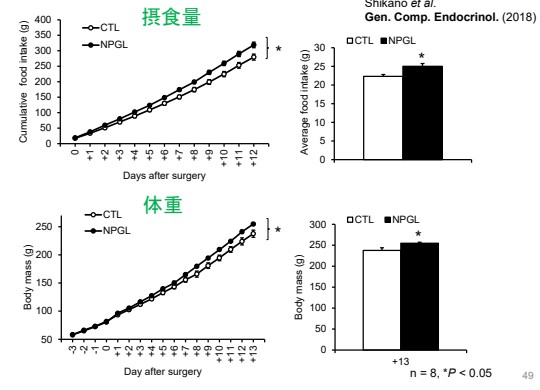


ニワトリ・ヒナを用いた脳室内慢性投与方法を確立した



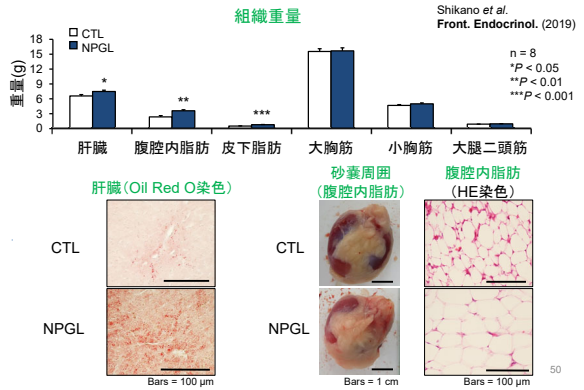
ニワトリ・ヒナを用いたNPGLの脳室内慢性投与により、摂食量と体重が増加した

Shikano et al. Gen. Comp. Endocrinol. (2018)



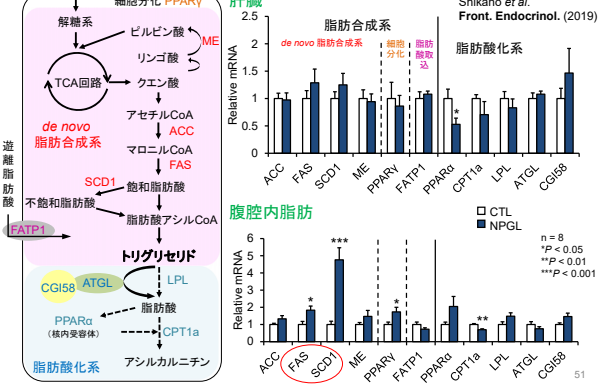
ニワトリ・ヒナを用いたNPGLの脳室内慢性投与により、肝臓と脂肪組織に脂肪蓄積が観察された

Shikano et al. Front. Endocrinol. (2019)



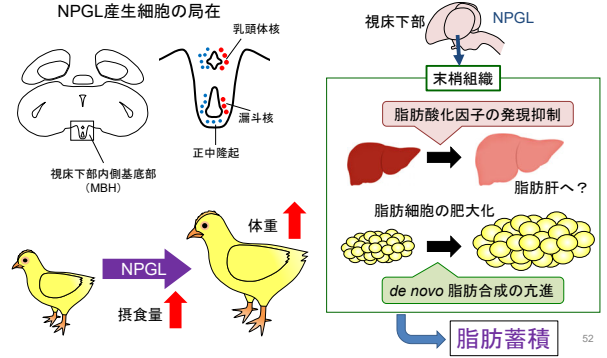
ニワトリ・ヒナを用いたNPGLの慢性投与により、脂肪組織でのde novo脂肪合成が促進された

Shikano et al. Front. Endocrinol. (2019)



ニワトリ・データの小括

NPGLは視床下部内で作用し、主に脂肪組織でのde novo脂肪合成の亢進により、肝臓や脂肪組織での脂肪蓄積を促す新しい脳因子である



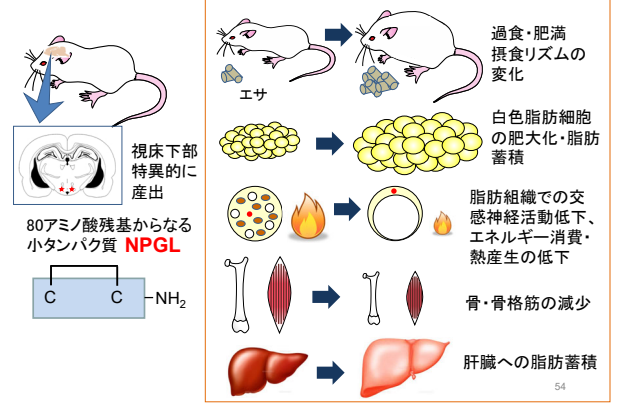
ニワトリ・ラット・マウスでの結果と考察

方法	解析項目	ニワトリ・ヒナ	ラット	マウス
急性投与	摂食量	変化なし	変化なし	↑
	脂肪量	脂肪組織、肝臓 ↓	脂肪組織 ↓	脂肪組織、肝臓 ↓
慢性投与	摂食量	↑	↑	↑
	脂肪量	脂肪組織、肝臓 ↓	脂肪組織 ↓	脂肪組織、肝臓 ↓

Gen. Comp. Endocrinol. (2018) eLife (2017) Endocrinology (2017)
Front. Endocrinol. (2019) J. Endocrinol. (2020)

- 摂食促進効果は強力ではない(摂食と脂肪蓄積は独立したもの?)
- de novo脂肪合成を介した脂肪蓄積が顕著
- 性成熟や飢餓に備えた合目的な脂肪蓄積
- 末梢の脂肪蓄積を促す初めての中枢性因子

新規脳因子NPGLの作用のまとめ



まとめと今後の可能性

- 末梢組織での脂肪蓄積を調節するユニークな脳因子の発見である(これまでに報告がない経路)
 - 摂食調節やエネルギー代謝調節の理解へ
- 炭水化物摂取を促す作用を見出しているため、昨今着目されている糖質制限ダイエットへの科学的知見を与えられる
 - 効率の良いダイエット方法を確立できる可能性
- 過度の肥満ではなく、多くの中高年が経験する過体重や隠れ肥満のモデル動物となる可能性がある
 - 内臓脂肪蓄積や異所性脂肪蓄積は代謝疾患の発症を促進させるため、対策が必要
 - NPGLを利用したエネルギー代謝疾患モデル動物を作製し、過食や脂肪蓄積を防ぐ医薬品のスクリーニングへ

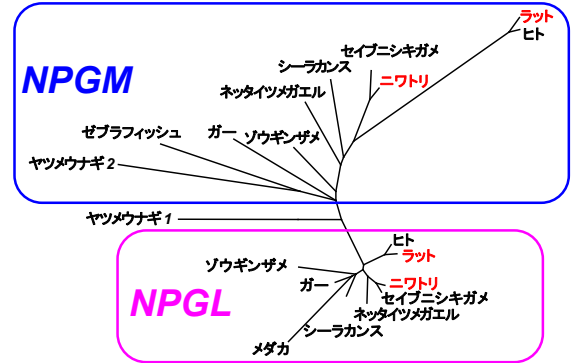
55

今後の研究課題

- 作用機序は？
 - 標的細胞、受容体、神経回路網の解析
- 普遍的な生理的意義は？
 - 寒冷や季節繁殖に備えた脂肪蓄積？ 冬眠動物・渡り鳥
 - 隠れ肥満・炭水化物抜きダイエットへの示唆
- 遺伝子改変動物での解析は？
 - ゲノム編集を用いた遺伝子改変動物の産出(DREADD)
- パラログ因子や脊椎動物における普遍性は？
 - NPGL
 - ニワトリ・ラット・マウス以外の動物種を用いた解析

56

NPGL遺伝子のパラログ遺伝子: NPGMの存在



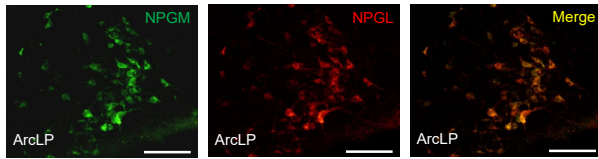
アミノ酸配列の分子系統樹解析(近隣結合法, JTTモデル)

57

ラットとマウスにおいて、NPGLとNPGMは同一細胞で産生される

Unpublished data

蛍光二重免疫染色



Bars = 100 μm

58

NPGL・NPGMに関するこれまでの成果

- Narimatsu et al. *Neuroendocrinology* 112:606-620 (2022)
- Narimatsu et al. *Int. J. Mol. Sci.* 23:6488 (2022)
- Kato et al. *Front. Physiol.* 13:860912 (2022)
- Naito et al. *Biomedicines* 10:454 (2022)
- Narimatsu et al. *Int. J. Mol. Sci.* 23:2071 (2022)
- Kato et al. *Front. Physiol.* 12:747473 (2021)
- Fukumura et al. *Molecules* 26:8006 (2021)
- Narimatsu et al. *Helvion* 7:e07502 (2021)
- Fukumura et al. *Int. J. Mol. Sci.* 22:4681 (2021)
- Fukumura et al. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 85:1514-1520 (2021)
- Kadota et al. *Int. J. Mol. Sci.* 22:2109 (2021)
- Shikano et al. *J. Endocrinol.* 244:1-12 (2020)
- Shikano et al. *Front. Endocrinol.* 10:392 (2019)
- Shikano et al. *Sci. Rep.* 8:704 (2018)
- Shikano et al. *Gen. Comp. Endocrinol.* 265:71-76 (2018)
- Ukena. *Gen. Comp. Endocrinol.* 260:164-170 (2018)
- Shikano et al. *Gen. Comp. Endocrinol.* 256:37-42 (2018)
- Iwakoshi-Ukena et al. *eLife* 6:e28527 (2017)
- Matsuura et al. *Endocrinology* 158:1120-1129 (2017)
- Masuda et al. *Tetrahedron Lett.* 57:804-807 (2016)
- Masuda et al. *FEBS Open Bio* 5:844-851 (2015)
- Masuda et al. *J. Pept. Sci.* 21:454-460 (2015)
- Ukena et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 446:298-303 (2014)

59

神経ペプチドや抗菌ペプチドも含めた生理活性ペプチドの探索と機能解明

- 環形動物のアネトシンの同定と産卵行動
- ホヤにおけるオキシトシン系ペプチドの同定と浸透圧調節
- 新規脳ホルモンGnIHと26RFaの同定と機能解析
- イシカワガエルの皮膚からの抗菌ペプチドの同定
- 新規エネルギー代謝調節因子NPGLの同定と機能解析



60



61

謝辞 (敬称略、順不同)

- | | |
|------------------|--------------------------------|
| 筒井和義 (広島大・早稲田大) | Lance Kriegsfeld (UC Berkeley) |
| 松島 治 (広島大) | George Bentley (UC Berkeley) |
| 宗岡洋二郎 (広島大) | John Wingfield (UC Davis) |
| 石居 進 (早稲田大) | Peter Sharp (Roslin Inst.) |
| 菊山 栄 (早稲田大) | Hubert Vaudry (U Rouen) |
| 橋 哲也 (愛媛大) | |
| 南方宏之 (サントリー生科財団) | 箕越靖彦 (生理研) |
| 佐竹 炎 (サントリー生科財団) | 岡本土毅 (生理研・琉球大) |
| 安東宏徳 (新潟大) | 佐々木 努 (群馬大・京都大) |

- (広島大)
- | | |
|-------|--------------------|
| 住田正幸 | 近江智行 |
| 彦坂 暁 | 坂本浩隆 (現・岡山大) |
| 森下文浩 | 産賀崇由 (現・国際がん研究所) |
| 古川康雄 | 大杉知裕 (現・サントリー生科財団) |
| 齋藤祐見子 | 原口省吾 (現・昭和大) |
| 高瀬 稔 | 松永昌宏 (現・愛知医大) |
| 山本 卓 | |
| 安藤正昭 | |
| 佐藤明子 | |
| 小林勇喜 | |

学会・研究会関係者の先生方・研究室の卒業生

浮穴研究室メンバー現在

- 岩越崇子
- 古瀬芽久美
- 成松勇樹
- 加藤正輝
- 森脇翔梧
- 中尾ゆきの

過去の在籍者

- 福村圭介
- 鹿野健史朗
- 益田恵子
- 谷内秀輔
- 前嶋 翔
- 近藤邦裕
- 別所裕紀
- 松浦大智
- 越智祐太
- 齋藤隆也
- 門田博幸
- 内藤万菜
- 三村朱花
- 新潟夏海
- 大山晴香
- 田中幸恵
- 大口悦宏
- 佐藤瑞奈
- 佐藤真実
- 山崎玲子
- 後藤春英

62

謝辞 (敬称略、順不同)

- | |
|------------------|
| 筒井和義 (広島大・早稲田大) |
| 松島 治 (広島大) |
| 宗岡洋二郎 (広島大) |
| 石居 進 (早稲田大) |
| 菊山 栄 (早稲田大) |
| 橋 哲也 (愛媛大) |
| 南方宏之 (サントリー生科財団) |
| 佐竹 炎 (サントリー生科財団) |
| 安東宏徳 (新潟大) |

- (広島大)
- | | |
|-------|--------------------|
| 住田正幸 | 近江智行 |
| 彦坂 暁 | 坂本浩隆 (現・岡山大) |
| 森下文浩 | 産賀崇由 (現・国際がん研究所) |
| 古川康雄 | 大杉知裕 (現・サントリー生科財団) |
| 齋藤祐見子 | 原口省吾 (現・昭和大) |
| 高瀬 稔 | 松永昌宏 (現・愛知医大) |
| 山本 卓 | |
| 安藤正昭 | |
| 佐藤明子 | |
| 小林勇喜 | |

学会・研究会関係者の先生方・研究室の卒業生

浮穴研究室メンバー現在

- 岩越崇子
- 古瀬芽久美
- 成松勇樹
- 加藤正輝
- 森脇翔梧
- 中尾ゆきの

過去の在籍者

- 福村圭介
- 鹿野健史朗
- 益田恵子
- 谷内秀輔
- 前嶋 翔
- 近藤邦裕
- 別所裕紀
- 松浦大智
- 越智祐太
- 齋藤隆也
- 門田博幸
- 内藤万菜
- 三村朱花
- 新潟夏海
- 大山晴香
- 田中幸恵
- 大口悦宏
- 佐藤瑞奈
- 佐藤真実
- 山崎玲子
- 後藤春英

63