

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

令和 4 年 4 月 27 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 国立大学法人群馬大学 大学院保健学研究所
職 名 教授
研究代表者 小澤厚志

下記のとおり令和3年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号:20027)

1. 共同研究課題名	エネルギー代謝調節機構における TRH の機能解明:PVN 特異的 TRH ノックアウトマウスの作製と解析			
2. 共同研究目的	甲状腺機能制御の最上位中枢は視床下部であるが、視床下部における Thyrotropin-releasing hormone(TRH) の責任領域は不明である。私達は最近、室傍核(paraventricular Nucleus:PVN)の TRH ニューロンに着目し、PVN 特異的 TRH 欠損マウスを作製し解析した。このマウスは、全身の TRH が欠損した conventional TRH 欠損マウスと比較して、耐糖能や体重増加といったエネルギー代謝調節の表現型に差があることが判明した。TRH そのものがエネルギー代謝系に及ぼす影響について詳細に解析することを研究目的とした。			
3. 共同研究期間	令和3年 4月 1日 ~ 令和4年 3月31日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役割分担	
(研究代表者) 小澤 厚志	群馬大学大学院保健学研究所看護学講座 基礎看護学	職名:教授 学位:博士(医学) 取得年月日:2002.3.31	研究の立案、実行、総括	
(分担研究者) 近藤 友里	群馬大学大学院医学系研究科内科学講座内分泌代謝内科学	研究員	代謝機構に係る実験・解析	
5. 群馬大学生体調節研究所の共同研究担当教員	分野名	代謝シグナル解析	氏 名	河野大輔

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

(課題番号:)

6. 共同研究計画

(1) 同程度の甲状腺機能低下症を呈するPVN特異的TRH欠損マウス(PVN-TRH^{-/-})と、conventional TRH欠損マウス(TRH^{-/-})において15週齢以降で体重に有意差が生じる要因を解析するため、生体調節研究所内の摂食飲水行動量測定装置を用いて、PVN-TRH^{-/-}群、TRH^{-/-}群、野生型群の3群間の比較検討を行う。PVN-TRH^{-/-}群が野生型群、TRH^{-/-}と群と体重の有意差を生じる15週齢以降のマウスを用いる。

(2) コンピューター断層撮影装置を用いて、15週齢以降の3群のマウスを撮影し、体重差が生じる誘引が皮下脂肪、内臓脂肪の量に起因するか否かを検討する。

(3) 3群のマウスを4°Cの寒冷環境に暴露し、経時的に直腸温を測定し、種々の時点で安楽死させて褐色脂肪組織、白色脂肪組織、肝臓を単離する。TRHの熱産生における機能を解析するため、脂肪組織におけるUCP1蛋白およびmRNA発現量をウエスタンブロット法、qPCR法にて解析し、Pgc1 α やFgf21などの熱産生関連因子についても解析する。

(4) 3群のマウスからコラゲネース法を用いて腭ランゲルハンス島細胞を単離し、種々の濃度のグルコースによって刺激し、インスリン分泌能を検討する。

なお甲状腺機能低下症の影響を排除するために、(1)~(4)の実験については、PVN-TRH^{-/-}、TRH^{-/-}とも実験の2週間前からサイロキシンを投与して甲状腺機能を正常化したマウスを用いる。

7. 共同研究の成果

(1) PVN特異的TRH欠損マウス(PVN-TRH^{-/-})では野生型マウスに比較して、行動量、摂食量とも有意差は認めなかったが、熱産生量に有意な低下を認めた。

(2) コンピューター断層撮影装置を用いての、3群のマウスの撮影結果では、皮下脂肪、内臓脂肪の量に有意差は認めなかった。

(3) conventional TRH欠損マウス(TRH^{-/-})と野生型マウスを4°Cに寒冷暴露したところ、TRH^{-/-}では90分での血清TSHの上昇と、引き続きのThyroxine (T4)値上昇を認めず、20°Cまで直腸温が低下した。T4を実験前に補充していた群では部分的に直腸温低下は回避されたが、野生型に比べ寒冷暴露中の直腸温は有意に低値だった。寒冷暴露後のTRH^{-/-}のBATにおいてはcAMP濃度は野生型に比べ低下しており、UCP1発現量も低下していた。またPgc1 α Fgf21やDio2などの熱産生関連因子についても発現量が低下していた。

(4) 3群のマウスからコラゲネース法を用いて腭ランゲルハンス島細胞を単離し、種々の濃度のグルコースによって刺激し、インスリン分泌能を検討したところ、conventional TRH欠損マウス(TRH^{-/-})由来のランゲルハンス島細胞では野生型マウス由来に比較して低~高濃度のグルコース刺激に対するインスリン分泌量が減弱していた。

なお甲状腺機能低下症の影響を排除するために、(1)~(4)の実験については、PVN-TRH^{-/-}、TRH^{-/-}とも実験の2週間前からサイロキシンを投与して甲状腺機能を正常化したマウスを用いた。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換 (本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

① 本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

Kondo Y, Ozawa A, Kohno D, Saito K, Buyandalai B, Yamada S, Horiguchi K, Nakajima Y, Shibusawa N, Harada A, Yokoo H, Akiyama H, Sasaki T, Kitamura T, Yamada M. The hypothalamic paraventricular nucleus is the center of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis for regulating thyroid hormone levels. *Thyroid* 2022 32:105-114.

② この共同研究に基づくとの記載のある論文

Kondo Y, Ozawa A, Kohno D, Saito K, Buyandalai B, Yamada S, Horiguchi K, Nakajima Y, Shibusawa N, Harada A, Yokoo H, Akiyama H, Sasaki T, Kitamura T, Yamada M. The hypothalamic paraventricular nucleus is the center of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis for regulating thyroid hormone levels. *Thyroid* 2022 32:105-114.原稿中に、Financial informationとしてthe Joint Research Program of the Institute for Molecular and Cellular Regulation, Gunma University [20027 (to A.O.)]と記載した。

③ 学会発表を行った主なもの3件以内(学会名、開催日、演題)

1) Kondo Y, Ozawa A et al. Leptin regulates Hypothalamus-Pituitary-Thyroid axis via TRH in energy expenditure during fasting: The study on TRH deficient mice. ENDO2021, San Diego, USA. 2021.3.20-23.

2) 小澤厚志 他. エネルギー代謝調節機構における Thyrotropin-Releasing Hormone (TRH)の役割: TRH ノックアウトマウスの解析(シンポジウム). 第7回生体調節研究所内分泌代謝シンポジウム, 前橋. 2021.9.9-10.

3) 小澤厚志, 他. エネルギー代謝調節機構における Thyrotropin-Releasing Hormone (TRH)の役割(シンポジウム). 第42回日本肥満学会, 横浜. 2022.3.26-27.

④ 本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況(主なやり取りを箇条書き)

・論文発表や学会発表に際して、原稿の査読やデータのチェックを相互に行った。