

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 5 年 4 月 28 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 大学院保健学研究科
 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、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、特に寒冷暴露時における熱産生機構における TRH の役割を解析することを研究目的とした。			
3. 共同研究期間	令和4年 4月 1日 ~ 令和5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科看護学講座 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8~15週齢で野生型群をコントロールとして3群間の体重、褐色脂肪細胞(BAT)、鼠蹊部皮下脂肪(inguinal WAT: iWAT)、精巣上体脂肪(epididymal WAT: eWAT)の重量測定と血清TSH値、free T4値の測定を行った。
 - (2) 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血液採取、BAT、iWAT、eWAT、肝臓、下垂体を単離した。TRHの熱産生における機能を解析するため、各ポイントにおける血清free T4 (fT4)値の測定、各脂肪組織におけるUCP1蛋白およびmRNA発現量をウェスタンブロット法、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qPCR法にて解析し、またBAT中のcAMP濃度について測定した。
 - (3) 安楽死各時点における下垂体前葉組織におけるTSH β 遺伝子発現量をqPCR法にて解析した。
 - (4) 3群のマウスを寒冷暴露後4時間時点でのBATからRNAを抽出し、RNA sequencingを施行した。
- 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。

7. 共同研究の成果

- (1) PVN特異的TRH欠損マウス(PVN-TRH^{-/-})、conventional TRH欠損マウス(TRH^{-/-})、野生型マウスでは12週齢まで3群間に体重の有意差は認めなかったが、15週以降、PVN-TRH^{-/-}ではTRH^{-/-}、野生型マウスに比較して有意差を持って低体重であった。また15週齢時点で3群間のBAT、iWAT、eWATの重量には有意差を認めなかった。15週齢時点でPVN-TRH^{-/-}、TRH^{-/-}の血清fT4値は野生型の約60%に低下しており、血清TSH値は野生型の約1.5倍に上昇しておりヒトにおける視床下部性甲状腺機能低下症の表現型と一致していた。
- (2) 甲状腺機能低下症の影響を排除するために、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上で、3群のマウスを4°Cに寒冷暴露したところ、野生型に比べPVN-TRH^{-/-}、TRH^{-/-}とも寒冷暴露中の直腸温は60分以降320分まで有意に低値だった。寒冷暴露後のPVN-TRH^{-/-}、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。
- (3) 寒冷暴露前、暴露後320分時点で摘出した下垂体前葉におけるTSH β 遺伝子mRNA発現量は3群間で有意差を認めなかった。
- (4) 3群のマウスを寒冷暴露後4時間時点でのBATから抽出したRNAを用いてRNA sequencingを施行した。結果を解析中である。

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。