

論文の内容の要旨

論文題目 PPAR γ mediates high-fat diet-induced adipocyte hypertrophy and insulin resistance

和訳 PPAR γ は高脂肪食負荷下で脂肪細胞の肥大化とインスリン抵抗性を調節する

指導教官 木村 哲教授

東京大学大学院医学系研究科

平成9年4月入学

医学博士課程

内科学専攻

氏名 窪田直人

はじめに

PPARは1990年に、脂肪分解に関与する細胞内小器官であるペルオキシソームを増加させる作用を仲介する蛋白として同定され、ペルオキシソーム増殖剤により活性化を受けるレセプターという意味で peroxisome proliferator-activated receptor(PPAR)と名付けられた。PPARは他の核内受容体と同様、中央部のDNA結合ドメインとc末端側のリガンド結合ドメインからなり、これまでに3種のサブタイプが同定されている。PPAR γ はPPARファミリーの中で最も脂肪細胞特異的に発現しており、脂肪細胞特異的遺伝子群の転写の前段階から発現が増加していることが示され、その生理的機能が注目されていた。TontonozらはPPAR γ を脂肪細胞への分化能を持たない線維芽細胞に強制発現させ、同時にPPAR γ の活性化剤を添加することにより線維芽細胞が脂肪細胞に分化することを示し、PPAR γ が脂肪細胞分化のマスターレギュレーターであることを示した。このことはPPAR γ が脂肪細胞分化の一連の遺伝子カスケードにおいて重要な分子であることを意味している。私はPPAR γ の個体における生理的役割を明らかにするためにPPAR γ ノックアウトマウスを作製し、その解析を行った。

1、PPAR γ の脂肪細胞分化における役割

PPAR γ ホモ欠損マウスは胎生10.5日から11.5日の間に死亡していた。この時期PPAR γ は胎盤においてのみその発現が認められ、胎盤異常が胎生致死の原因と考えられた。実際、ホモ欠損マウスの胎盤ではラビリンス層が野生型に比し薄く、内部の毛細血管網が未発達であった。次に私はPPAR γ の脂肪細胞分化における役割を明らかにするためにPPAR γ 欠損マウスの胎児線維芽細胞を用いて、脂肪細胞への分化誘導実験を行った。誘導剤にはイソブチルメチルキサンチン(IBMX)、デキサメサゾン(DEX)、インスリン(INS)を使用し、野生型、ヘテロ欠損型、ホモ欠損型の脂肪細胞への分化の程度をOil-Red-O染色にて評価した。その結果、ホモ欠損型では脂肪細胞に全く分化せず、PPAR γ が脂肪細胞分化に必須であることが証明された。またPPAR γ の発現量が半分であるヘテロ欠損型では脂肪細胞分化の程度も約半分になることから脂肪細胞分化はPPAR γ の発現量依存的に起こっていることも明らかとなった(図1上段)。さらにホモ欠損型ではチアゾリジン誘導体(TZD)を作用させても脂肪細胞への分化は全く認められないことから、チアゾリジン誘導体の脂肪細胞分化作用はPPAR γ を介していることも明らかとなった(図1中段)。次に脂肪細胞分化が起らなかったホモ欠損型胎児線維芽細胞にレトロウイルスを用いてPPAR γ 遺伝子を導入したところ、導入さ

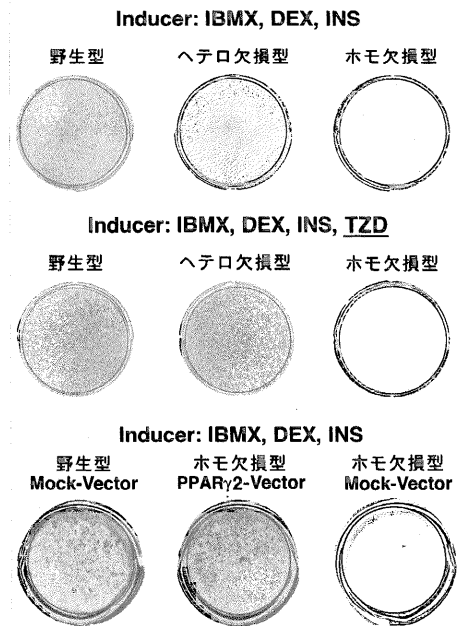


図1、野生型、ヘテロ欠損型、ホモ欠損型の胎児線維芽細胞の脂肪細胞分化

れた細胞では、分化能が野生型と同程度にまで回復した(図1下段)。以上のことから脂肪細胞分化にはPPAR γ が必要かつ十分であることが証明された。

II、個体におけるPPAR γ の役割

次にPPAR γ の肥満やインスリン抵抗性における役割を明らかにするために高脂肪食負荷を行った。野生型及びヘテロ欠損マウスにそれぞれ高脂肪食及び高炭水化物食負荷を行い、体重、白色脂肪組織重量、白色脂肪細胞の大きさを測定した。高脂肪食負荷群においてヘテロ欠損マウスでは体重の増加、白色脂肪組織重量の増大、白色脂肪細胞の肥大化の程度がいずれも野生型に比し有意に低下していた。(図2A, B)。またインスリン負荷試験を行ったところ、高脂肪食負荷前では野生型とヘテロ欠損型において差は認められなかったが、負荷15週後では野生型がインスリン抵抗性をきたしたのに対し、ヘテロ欠損型ではこのようなインスリン抵抗性の出現は認められなかった(図2C)。このように、PPAR γ ヘテロ欠損マウスでは高脂肪食負荷時、脂肪細胞の肥大化や脂肪蓄積が抑制され、それに伴ってインスリン抵抗性の出現も軽度となっていた。

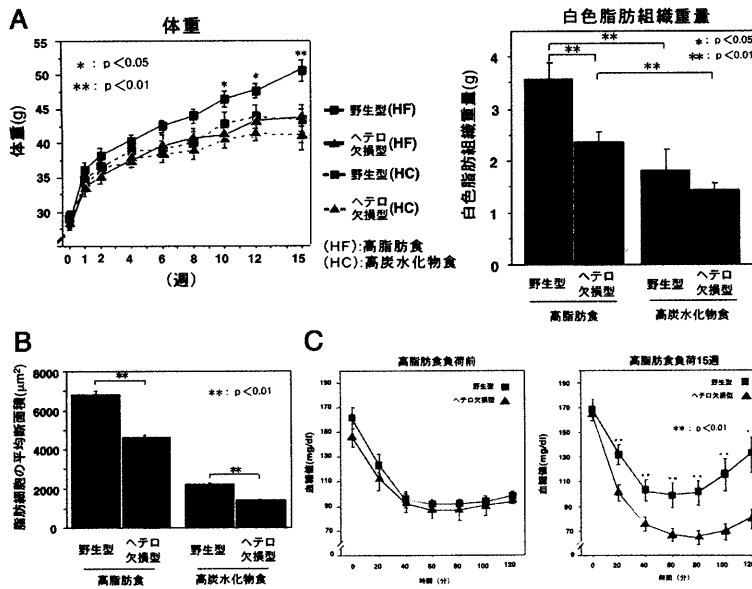


図2 A、
高脂肪食、高炭水化物食
負荷時の体重と白色脂肪
組織重量
図2 B、
高脂肪食、高炭水化物食
負荷時の白色脂肪細胞の
大きさ
図2 C、
高脂肪食負荷前後の
インスリン負荷試験

図3は、脂肪細胞分化、脂肪細胞肥大化とインスリン感受性の制御におけるPPAR γ の役割を示したモデルである。野生型では高脂肪食負荷時、脂肪細胞の肥大化や脂肪蓄積が促進し、その結果インスリン抵抗性が惹起されることが知られている。今回、PPAR γ ヘテロ欠損マウスにおいてこれらの脂肪細胞の肥大化や脂肪蓄積、インスリン抵抗性の出現が抑制されたことから、PPAR γ が脂肪細胞の肥大化とインスリン抵抗性出現にも重要な役割を果たしていることが初めて明らかとなった。チアゾリジン誘導体は主に前駆脂肪細胞の分化を促進することによりインスリン感受性を亢進させるが、このようにPPAR γ は脂肪細胞の分化と脂肪蓄積の両者に作用しそれぞれインスリン感受性及びインスリン抵抗性の形成を引き起こすことが明らかとなった。これらのことから、PPAR γ はチアゾリジン誘導体投与などの比較的高濃度のリガンドにさらされた場合は脂肪細胞の分化とインスリン感受性亢進に作用し、高脂肪食負荷といった比較的低濃度の生理的濃度のリガンドにさらされた場合は脂肪蓄積とインスリン抵抗性に作用するという2面的な役割を有すると考えられる。

次にPPAR γ ヘテロ欠損マウスにおける脂肪蓄積の抑制のメカニズムについて検討を加えた。高脂肪食負荷時の野生型とヘテロ欠損マウスの摂餌量と直腸温を測定したところ、ヘテロ欠損マウスでは有意に摂餌量の減少と直腸温の上昇が認められ(図4A)、ヘテロ欠損マウスでは高脂肪食負荷時、エネルギー摂取の低下とエネルギー消費の亢進により、脂肪細胞肥大化や脂肪蓄積、およびインスリン抵抗性出現が抑制されていることが明らかとなった。これらはレプチン作用の亢進として説明できる可能性があると考え検討したところ、高脂肪食負荷群のヘテロ欠損型は白色脂肪細胞の大きさが野生型に比し小型であるにもかかわらず、白色脂肪組織におけるレプチンの発現量、血中レプチンレベルが高値であった(図4B)。次に胎児線維芽細胞

より分化させた脂肪細胞を用いてレプチンの発現量及び分泌量を検討した。前述と同様に脂肪細胞分化を行い、分化に伴うレプチンの発現量を検討したところ、ホモ欠損型では全くその発現が確認できなかったのに対し、ヘテロ欠損型では分化の程度が半分ほどであるにも関わらず、野生型に比しその発現が増加していた(図4C)。またこの時の培養液中のレプチン濃度もヘテロ欠損型では野生型に比し高値を示し、(図4C)、個体レベルで認められたレプチン発現量の増加と血中レプチンレベルの上昇は脂肪細胞の転写レベルで制御されていることが明らかとなった。成熟脂肪細胞においてレプチンの発現量はPPAR γ アゴニスト投与により約3/4落ちること、またPPAR γ アゴニストはC/EBP α のレプチン転写活性化能を抑制することから、今回ヘテロ欠損型で認められたレプチンの発現量及び分泌量の増加はPPAR γ 遺伝子が半分になったため、レプチン遺伝子に対するPPAR γ の抑制が部分的に解除された結果によるものと考えられる。以上のことからPPAR γ は、高脂肪食負荷による脂肪細胞肥大化、脂肪蓄積、インスリン抵抗性の出現を媒介し、その作用の一部はレプチン発現の抑制を介するものと考えられた。

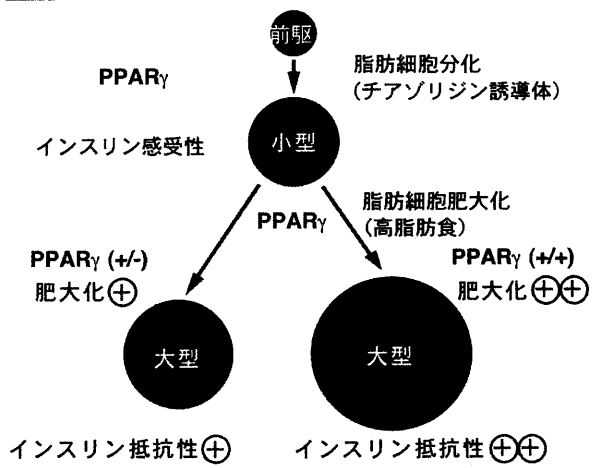


図3、脂肪細胞肥大化とインスリン感受性調節におけるPPAR γ の役割

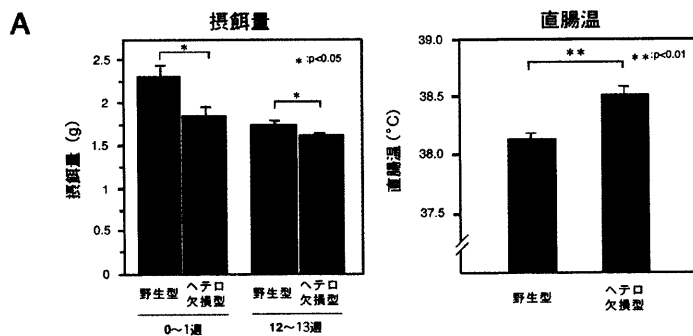


図4A、高脂肪食負荷時の摂餌量と直腸温

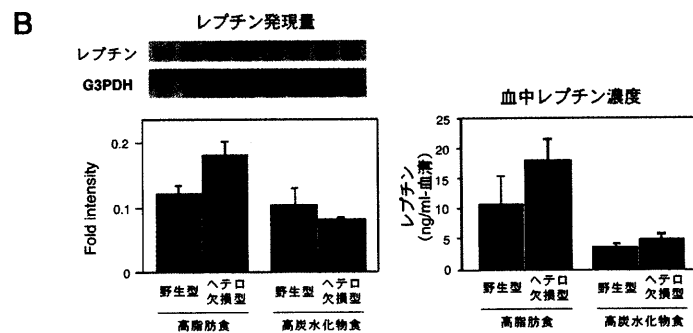


図4B、高脂肪食負荷時の白色脂肪組織におけるレプチン発現量と血中レプチン濃度

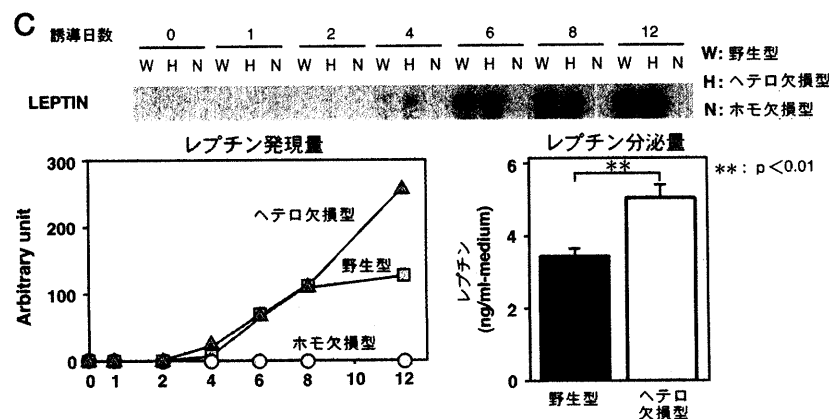


図4C、脂肪細胞分化に伴うレプチンの発現と分泌

図5は脂肪細胞分化、脂肪細胞肥大化とインスリン感受性の制御におけるレプチンの役割を示したモデルである。野生型では高脂肪食負荷による脂肪細胞の肥大化とインスリン抵抗性の出現は、視床下部における中枢性のレプチン抵抗性と2つのPPAR γ 遺伝子によるレプチン発現の抑制によって引き起こされていると考えることができる。それに対しPPAR γ ヘテロ欠損型では野生型同様に視床下部における中枢性のレプチン抵抗性はあるものの、PPAR γ 遺伝子を一本失ったためにレプチン発現の抑制が部分的に解除され、相対的なレプチン作用亢進状態となり、高脂肪食負荷における脂肪細胞肥大化の抑制とインスリン抵抗性出現の抑制を引き起こしている可能性が示された。

おわりに
私はPPAR γ が脂肪細胞分化のみならず、脂肪細胞肥大化とそれに伴うインスリン抵抗性出現においても重要な役割を果たしていることを初めて明らかにした。PPAR γ 遺伝子はこのように脂肪細胞におけるレプチンの発現抑制を介して、高脂肪食下でエネルギー貯蔵に作用し、典型的な儉約遺伝子 "thrifty gene"として働いていると考えることができる。そして飢餓環境においてはそれは生存に有利に働いていたが、現代のような飽食の時代では2対のPPAR γ 遺伝子の存在は肥満やインスリン抵抗性といった習慣生活病の原因となり、生存に不利に働いているものと思われる。最近、ヒトにおいて同定された転写活性能が約70%に低下しているPPAR γ 2Pro12Ala多型を持つヒトは、肥満、インスリン抵抗性が軽度となっており、PPAR γ 遺伝子がヒトにおいても儉約遺伝子として作用していることが報告されている。またこのPPAR γ の新しい役割は創薬の分野においても例えば肥満やインスリン抵抗性に対するPPAR γ アンタゴニストのような新しい治療戦略の確立に一役担う可能性を示唆していると思われる。

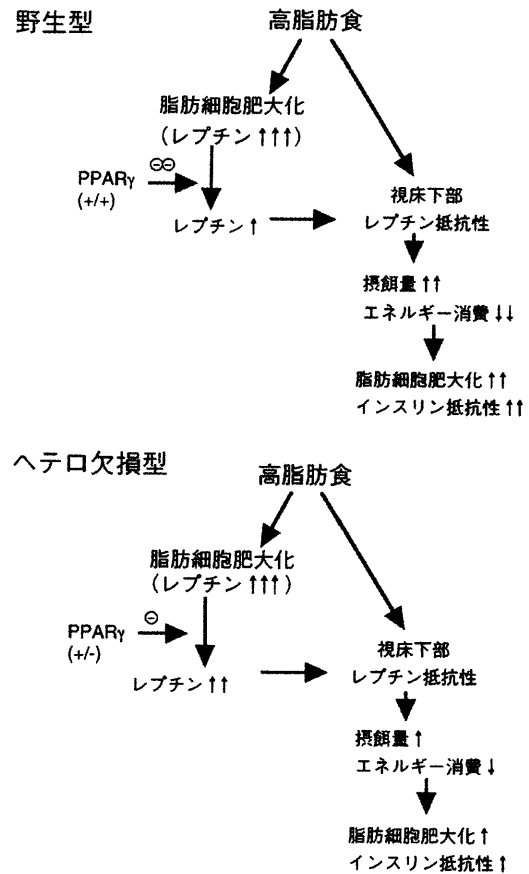


図5、脂肪細胞肥大化とインスリン感受性調節におけるレプチンの役割

図5、脂肪細胞肥大化とインスリン感受性調節におけるレプチンの役割