

審査の結果の要旨

氏名 田中 十志也

PPAR δ は脂質恒常性, 糖代謝, エネルギー消費, およびコレステロール逆転送系に関わる遺伝子群の転写を調節するPPARsファミリーに属する核内受容体で, 普遍的に発現しているために発現分布からの機能予測が難しいことに加え, 内因性リガンドあるいは選択的合成リガンドが得られていなかったために, その生理的役割に対する理解は遅れている. しかし, PPAR δ は骨格筋に高発現であること, 運動時あるいは絶食時におけるPPAR α ノックアウトマウスの骨格筋の脂肪酸代謝は野生型マウスと比較して変化がないことから, PPAR δ が骨格筋の脂肪酸代謝に関与していることが示唆される. 骨格筋は脂肪酸をエネルギー源として燃焼する組織であることに加え, 個体のインスリン感受性をも決定する組織であるにもかかわらず, これまでのところ骨格筋におけるPPARsの役割については明らかにされていなかった. これらのことより, 本論文では最近報告されたPPAR δ 選択的合成リガンドGW501516を用いて骨格筋におけるPPAR δ の役割について解析を実施した.

第2章では, まずRT-PCRの結果よりL6筋芽細胞およびL6筋管細胞においてPPAR δ がPPAR α およびPPAR γ と比較して高発現していることを示した. 次に, DNAマイクロアレイの結果より, PPAR δ アゴニストは筋管細胞において脂肪酸の輸送, 活性化, 酸化, 脱共役タンパク等, 脂肪酸代謝に係わる13個の遺伝子を誘導することを明らかにし, RT-PCRにて再確認した. さらに, GW501516は時間および用量依存的にL6筋管細胞における脂肪酸 β 酸化を誘導することを示した. これらの作用はPPAR α やPPAR γ のアゴニストでは認められず, PPAR δ がL6筋管細胞の脂肪酸代謝を調節する因子の一つであることを明らかにした.

第3章では, PPAR δ アゴニストはマウスの骨格筋脂肪酸 β 酸化を用量依存的に促進するが, PPAR α およびPPAR γ のアゴニストは骨格筋脂肪酸 β 酸化を促進しないことを明らかにした. PPAR δ アゴニストはマウス骨格筋においてFATP, LCAD, PDK4, UCP2およびUCP3誘導作用を示した. GW501516は摂餌量および行動量に影響することなく高脂肪食負荷による体重増加を有意に抑制することを明らかにした. また, GW501516は骨格筋および肝臓における脂肪蓄積, 脂肪細胞の肥大化, および脂肪重量の増加を抑制するとともに, 高脂肪食負荷によって惹起されるAST, ALTおよびLDHといった肝障害性マーカーの上昇を抑制した. 高脂肪食負荷による血糖上昇およびGW501516による有意な血糖低下作用は認められなかったが, GW501516は空腹時および随時インスリン値を有意に低下させた. さらに, グルコースおよびインスリン負荷試験の結果よりGW501516を投与したマウスでは対照群と比較して有意な血糖値の低下が認められ, インスリン感受性が亢進していることが示唆された. GW501516は高脂肪食負荷マウスにおいて酸素消費量を増加, 肝臓および骨格筋におけるトリグリセライドの蓄積を抑制することを明らかにした. 定量的PCRの結果より, GW501516は肝臓および骨格筋の脂肪酸 β 酸化系酵素および脱共役タンパクを誘導したが, 褐色脂肪組

織あるいは白色脂肪組織の脂肪酸 β 酸化系酵素の誘導は認められなかった。GW501516は白色脂肪細胞においてTNF α やPAI-1といったインスリンシグナリングを抑制するタンパク質の高脂肪食負荷による誘導を抑制することが示唆された。

摂食抑制ホルモンのレプチン遺伝子が欠損している*ob/ob*マウスにおいて、GW501516は摂食量に影響することなく、体重、血清トリグリセライド、遊離脂肪酸、総ケトン体、コレステロールを低下させることを明らかにした。GW501516は*ob/ob*マウスにおいて有意な血糖、インスリン低下作用およびアディポネクチン上昇作用を示した。また、グルコース負荷試験においてGW501516投与群では対照群と比較して常に血糖値は低値を示す一方、インスリン分泌が促進されることを明らかにした。病理組織学的所見より、*ob/ob*マウスでは膵島の顕著な過形成が認められるが、GW501516はこれを改善することを明らかにした。

第4章では、PPAR δ アゴニストの高脂肪食負荷動物における体重増加抑制効果が投与を実施した6ヶ月間持続すること、高脂肪食負荷によるPI-3 kinase活性の低下をPPAR δ アゴニストが改善することを明らかにした。また、GW501516が膵島からのグルコース応答性のインスリン分泌を用量依存的に促進すること、DNAマイクロアレイの結果より膵島においてGW501516によって誘導される遺伝子群を明らかにした。さらに、PPAR δ アゴニストを投与したマウスの骨格筋において誘導されるFATP, LCAD, PDK4, UCP2およびUCP3が絶食させたマウスの骨格筋において誘導されていることを明らかにした。

本論文の結果よりPPAR δ は、飢餓時あるいは寒冷刺激時における「脂肪酸燃焼センサー」としての機能を有し、遊離脂肪酸あるいはケトン体を取り込み脂肪酸 β 酸化および脱共役タンパクを誘導して、熱産生を増加させることが示唆された。したがって、PPAR δ アゴニストは骨格筋において脂肪燃焼を促進させることによって、末梢組織から骨格筋への脂肪酸の動員を増加させて脂肪組織や肝臓に蓄積したトリグリセライドを減少させることが示唆された。これらの作用により、PPAR δ アゴニストは高脂肪食負荷による体重増加抑制、インスリン抵抗性改善作用、脂肪肝改善効果および脂肪組織の肥大化抑制作用を介したアディポサイトカインの分泌改善効果を発揮することが示唆された。以上のことから、PPAR δ アゴニストは肥満、耐糖能異常、高脂血症、低HDL-コレステロール血症、高PAI-1血症といった高血圧を除くメタボリックシンドロームの主要な症状を改善しうる創薬ターゲットとなることを明らかとした。

本論文は、*in vitro*でのトランスクリプトーム解析に基づいたPPAR δ の機能予測に踏みとどまらず、*in vivo*モデルを用いてPPAR δ アゴニストの薬理作用を検討することで、これまで明らかにされていなかった生体内、特に骨格筋におけるPPAR δ の役割についての知見に加え、PPAR δ アゴニストがメタボリックシンドロームの新規治療薬になる可能性を提示するものであり、極めて意義深いものであると考えられる。

よって本論文は博士（学術）の学位請求論文として合格と認められる。