

## 論文の内容の要旨

論文題目 Impact of increased PPAR $\gamma$  activity in adipocytes in vivo on adiposity,  
insulin sensitivity and the effects of rosiglitazone treatment

和訳 成熟脂肪細胞における PPAR $\gamma$ 活性上昇が個体の脂肪量や  
インスリン感受性及びロシグリタゾン投与に与える影響について

氏名 高 沢 克 子

### [目 的]

PPAR $\gamma$ は核内受容体型の転写因子であり、脂肪細胞分化と脂肪貯蔵に重要な役割を果たしている。PPAR $\gamma$ には PPAR $\gamma$ 1 と PPAR $\gamma$ 2 の 2 つのアイソフォームが存在し、PPAR $\gamma$ 2 の発現は脂肪組織特異的であるが、PPAR $\gamma$ 1 は脂肪組織以外の組織にもその発現が認められる。PPAR $\gamma$ の発現は脂肪細胞分化の初期から誘導され、成熟脂肪細胞においても高い発現が認められている。また PPAR $\gamma$ の活性は、翻訳後修飾によって調節されていることが知られており、112 番目のセリンが MAP キナーゼによってリン酸化されるとその活性は抑制される。我々は以前 PPAR $\gamma$ ヘテロ欠損マウスにおいて、高脂肪食負荷時、肥満や脂肪細胞肥大化、インスリン抵抗性出現が抑制されていたことから、PPAR $\gamma$ が肥満やインスリ

ン抵抗性出現においても重要な役割をしていることを明らかにした。一方、PPAR $\gamma$ の恒常活性型変異である Ser112Ala (S112A)変異を knock-in したマウスでは、高脂肪食下、体重は変わらないが、インスリン感受性を示すことが報告された。このマウスでは恒常活性型変異体の発現は PPAR $\gamma$ 遺伝子のプロモーターによって調節されており、脂肪細胞分化初期から、その発現が認められていると考えられる。そこで本研究では成熟脂肪細胞における PPAR $\gamma$ 活性上昇が、個体の脂肪量やインスリン感受性に果たす役割を検討するために、成熟脂肪細胞においてその発現が誘導される aP2 (FABP-4)のプロモーターを用いて、脂肪組織特異的に PPAR $\gamma$ 2 S112A 変異を過剰発現させたトランスジェニックマウス (S112A マウス)を作製し、解析を行なった。

## [結 果]

S112A マウスに導入された遺伝子はサザンブロットにより 2 コピーであり、白色脂肪組織、褐色脂肪組織においてのみ発現していることが確認された。その発現と下流の遺伝子の発現は野生型マウスに比し約 2-3 倍となっていた。普通食下において S112A マウスは体重、白色脂肪組織重量、白色脂肪細胞の大きさ、糖・脂質代謝何れにおいても野生型マウスと差は認められず、インスリン感受性ホルモンであるアディポネクチンやレプチンの血中レベルも同程度であった。そこで次に高脂肪食負荷を行い、各パラメーターや PPAR $\gamma$ の下流の遺伝子発現について検討した。S112A マウスの白色脂肪組織では、

脂肪酸取り込み・合成にかかわるリポ蛋白リパーゼ (LPL), aP2, ステアロイル-CoA デサチユラーゼ 1 (SCD1) や脂肪酸酸化・脂肪分解にかかわるアシル-CoA オキシダーゼ (ACO), ホルモン感受性リパーゼ (HSL) の発現は野生型マウスに比し有意に上昇していたが、肥満や脂肪細胞肥大化の程度、糖・脂質代謝に野生型マウスとの差は認められなかった。また血中のアディポネクチン、レプチンレベル、絶食時の酸素消費量も野生型マウスと同程度であった。次に PPAR $\gamma$ 活性化能を有し、インスリン抵抗性改善薬として臨床的に使用されているチアゾリジン誘導体のひとつであるロシグリタゾンに対する反応性について、高脂肪食下に検討した。S112A マウスではロシグリタゾン投与に伴い、インスリン抵抗性と耐糖能の改善ならびに白色脂肪細胞の小型化、血中アディポネクチン値の上昇が認められたが、それらの程度は野生型マウスと同じであった。

#### [考 察]

成熟脂肪細胞において PPAR $\gamma$ 活性を上昇させた S112A マウスでは、普通食、高脂肪食下、何れにおいても野生型マウスと同程度の体重、インスリン感受性を示した。PPAR $\gamma$  の 50%活性低下は高脂肪食による肥満・インスリン抵抗性出現を抑制したが、脂肪細胞における約 2 倍の PPAR $\gamma$ 活性上昇はこれらのパラメーターに影響を与えず、肥満やインスリン抵抗性の増悪は認められなかった。

我々の作成した S112A マウスでは、体重に変化がないという点では一致していたが、

いくつかの点で既報の S112A knock-in マウスとはその表現型が異なっていた。S112A knock-in マウスでは野生型マウスに比し高脂肪食下において脂肪細胞肥大化やインスリン抵抗性出現が抑制されていたが、我々の S112A マウスでは何れも野生型マウスと同程度であった。この表現型の違いは1つには導入した遺伝子の発現時期による違いが考えられる。すなわち S112A knock-in マウスでは内因性の PPAR $\gamma$  遺伝子のプロモーターが使用されているため、aP2 プロモーターを使用した S112A マウスに比し脂肪細胞分化初期からその発現が誘導されていた可能性が高い。実際 S112A knock-in マウスでは脂肪細胞分化による脂肪細胞小型化とそれに伴うインスリン感受性ホルモンであるアディポネクチンの増加が認められており、これが S112A knock-in マウスの高脂肪食下におけるインスリン抵抗性出現抑制に作用した可能性がある。もう一つは PPAR $\gamma$  臓器特異的欠損マウスの解析から他のインスリン作用臓器においても PPAR $\gamma$  はインスリン感受性に作用することが報告されており、内因性の PPAR $\gamma$  プロモーターを使用している S112A knock-in マウスでは脂肪組織以外の臓器におけるインスリン感受性が増加している可能性も考えられる。

我々の作成した S112A マウスもロシグリタゾン投与も何れも脂肪組織における PPAR $\gamma$  活性を上昇させているが、その表現型は大きく異なっていた。すなわち S112A マウスではコントロールマウスとインスリン感受性に差は認められなかったが、野生型マウスにロシグリタゾンを投与した群ではインスリン抵抗性の改善が認められた。これは

PPAR $\gamma$ 活性化能そのものの違いが最も考えられるが、受容体が過剰な場合とリガンドが過剰な場合の違いである可能性も否定できない。PPAR $\gamma$ はリガンド依存的に活性化される核内受容体であり、生理的な状態では受容体の量に比し、リガンド量が少ない状態となっていると考えられる。そのためリガンド投与に比し、受容体の過剰発現は活性化上昇の程度が弱く表現型が認められなかった可能性もある。またリガンドは全身投与であるため、もう一方のアイソフォームである PPAR $\gamma$ 1 を活性化して他臓器のインスリン感受性に作用している可能性も考えられる。

#### [総括]

我々は以前 PPAR $\gamma$ 活性の 50%低下は高脂肪食負荷時の肥満や脂肪細胞肥大化、インスリン抵抗性出現を抑制することを報告したが、本研究の結果より、成熟脂肪細胞における約 2 倍の PPAR $\gamma$ 活性上昇は、肥満や脂肪細胞肥大化、インスリン抵抗性に影響を与えないことが明らかとなった。