

## 論文の内容の要旨

論文題目 Peroxisome Proliferator-activated Receptor  $\gamma$  Agonist Rosiglitazone  
Increases Expression of Very Low Density Lipoprotein Receptor Gene  
in Adipocytes

(Peroxisome Proliferator-activated Receptor  $\gamma$  アゴニスト ロシグリタゾン  
は、脂肪細胞において Very Low Density Lipoprotein 受容体の発現を亢進  
する)

氏 名 高澤 健

脂肪組織は脂質蓄積の主要な臓器であり、脂質のホメオスタシス維持にきわめて重要な役割を果たしている。また、脂肪組織は、生理状況に応じ、アディポネクチン、レプチン、TNF $\alpha$ 、レジスチンなど種々のシグナル分子（アディポサイトカイン）を分泌する内分泌器官としての機能も担っていることが明らかとなっている。一方、脂肪組織への過剰なエネルギーの蓄積は肥満を引き起こすとともに、糖尿病、脂質異常症等の生活習慣病の発症の基盤となっていることも知られている。近年の研究により、脂肪細胞への脂質蓄積に関連する因子として、アポリポプロテイン E (apoE) が注目されている。apoE は、肝臓をはじめ様々な抹消組織において合成される多機能タンパク質であり、LDL を除くリポプロテイン画分に含まれ、様々な受容体を介したりポプロテインの取り込みに関与していることが知られている。apoE を含む very low density lipoprotein

(VLDL) は、培養脂肪細胞の adipogenesis を誘導するのに対し、apoE の欠損した VLDL は adipogenesis を誘導しないこと、また、肥満モデル動物の apoE を欠損させることにより、高脂肪食によって誘導される肥満が抑制されることが報告され、apoE が脂肪細胞への脂質の取り込みに重要な役割を果たしていることが示唆されている。apoE を認識するリポプロテイン受容体として、これまで VLDL 受容体(VLDLR)や lipoprotein receptor related protein-1 を含むいくつかの受容体が同定され、その機能が明らかにされつつある。そのなかでも、VLDLR は脂肪組織をはじめ、脂肪酸代謝の活発な組織に多く発現しており、組織への脂肪酸の供給に重要と考えられている。VLDLR 欠損マウスを用いた検討から、VLDLR の欠損が、apoE の欠損と同様に、脂肪組織への脂質取り込みを減少させ、高脂肪食によって誘導される肥満を抑制することが報告され、apoE と VLDLR の相互作用が肥満の発症に重要な役割を果たすことが示唆されている。

Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) は核内受容体のひとつであり、3 種類のサブタイプ ( $\alpha$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ ) が存在する。これらサブタイプの発現には組織特異性が存在し、PPAR $\alpha$  は肝臓、骨格筋に、PPAR $\gamma$  は白色脂肪組織に主に発現し、PPAR $\delta$  は骨格筋をはじめとする広範囲の組織に普遍的に発現している。いずれの PPAR も、レチノイド X レセプターとヘテロ 2 量体を形成し、標的遺伝子のプロモーター領域に存在するダイレクトリピート 1 (AGGTCA-N-AGGTCA) という PPAR 応答配列(PPRE) に結合することにより、転写を制御する。特に、PPAR $\gamma$  は脂質蓄積に関連する様々な遺伝子の発現を制御していることが知られており、脂肪細胞の分化および脂質の蓄積において中心的役割を果たしている。さらに、PPAR $\gamma$  作動薬であるチアゾリジ誘導体 (TZD) は、PPAR $\gamma$  を活性化することにより、脂肪細胞の小型化をもたらし、インスリン抵抗性惹起分子の減少とアディポネクチンに代表されるインスリン感受性ホルモンを増加させ、インスリン抵抗性の改善および抗糖尿病作用を発揮する。一方、TZD は脂質代謝及び脂質蓄積に関連する遺伝子の発現を増加させることにより、脂肪重量増加

及び体重増加を引き起こすことも報告されている。しかしながら、TZDによるPPAR $\gamma$ の活性化が、VLDLRの発現量の制御を介した脂質の取り込みや体重増加に関与しているかどうかは明らかではなかった。

本研究では、VLDLRを介した脂肪細胞への脂質蓄積におけるPPAR $\gamma$ の役割を明らかにする目的で、肥満糖尿病モデルマウスの脂肪組織及びマウス培養脂肪細胞におけるVLDLRの発現量に対するPPAR $\gamma$ 作動薬であるRosiglitazoneの効果を検討した。ob/obマウスに4日間Rosiglitazoneを投与することにより脂肪組織中のVLDLRのmRNA量は有意に増加し、また3T3-L1脂肪細胞にRosiglitazoneを添加することによりVLDLRのmRNA量及びタンパク量が有意に増加した。これらの結果から、Rosiglitazoneが直接VLDLR遺伝子の転写を制御していることが考えられたため、次に、VLDLRのプロモーター領域を用いてレポーター遺伝子アッセイを行った。その結果、RosiglitazoneはVLDLRのプロモーターの転写活性を濃度依存的に増加させ、さらにプロモーター領域中のPPREと推定される配列に変異をいれることにより、Rosiglitazoneによる転写活性の亢進が消失した。続いて、この配列にPPAR $\gamma$ が直接結合していることを明らかにするため、ゲルシフトアッセイ及び3T3-L1脂肪細胞におけるクロマチン免疫沈降を行った。その結果、VLDLRのプロモーター領域のPPREと推定される配列に直接PPAR $\gamma$ が結合していることが明らかとなり、VLDLRがPPAR $\gamma$ のターゲット遺伝子であることが明らかとなった。次に、apoE-VLDLR経路を介したVLDLの脂肪細胞への取り込みが、Rosiglitazoneによる体重増加に関与するかを確かめるため、apoE欠損ob/obマウスにおける体重及び脂肪組織重量へのRosiglitazoneの効果を検討した。Rosiglitazoneの投与によりob/obマウスの体重及び脂肪組織重量は有意に増加したが、apoE欠損ob/obマウスでは、Vehicle投与群とRosiglitazone投与群間において体重及び脂肪組織重量の有意な変化は認められなかった。したがって、脂肪細胞へのapoE依存的な脂質の取り込みがRosiglitazoneによる体重増加に少なく

とも一部寄与している可能性が示唆された。更に、Rosiglitazone による体重増加作用における VLDLR の役割を明らかにする目的で、VLDLR 欠損マウスにおける体重および脂肪重量に対する Rosiglitazone の効果を検討した。その結果、野生型マウスにおいて認められた Rosiglitazone による体重及び脂肪重量増加が、VLDLR 欠損マウスでは認められなかった。これらの結果から、VLDLR を介した脂肪細胞への脂質の取り込みが Rosiglitazone によって誘導される脂質蓄積に重要な役割を果たしていることが示唆された。

結論として、本研究により、PPAR $\gamma$  が VLDLR のプロモーター上の機能的な PPRE に直接結合し、VLDLR の発現量を制御していること、さらに apoE-VLDLR 経路を介した脂質の取り込みが、Rosiglitazone により引き起こされる体重増加に少なくとも一部寄与することが示唆された。