

学 位 論 文 題 名

筋細胞における脱共役蛋白質 UCP の発現調節機構の解析

学位論文内容の要旨

肥満は内分泌代謝疾患の一つであり、現在日本を含めた先進国で深刻な問題となりつつある。肥満の原因には遺伝的要因、過食、運動不足などが挙げられるが、エネルギー消費の成分である代謝的熱産生の低下もその一つである。エネルギー消費の分子メカニズムについてはまだ不明な点も多いが、ミトコンドリアに存在し酸化的リン酸化と ATP 産生を脱共役させて熱を産生する脱共役蛋白質（uncoupling protein, UCP）がこれに関わる分子種として最近注目されている。UCP ファミリーのうち UCP1 は、げっ歯類での代謝的熱産生に大きな役割を果たしている褐色脂肪組織にほぼ特異的に発現している。これに対しヒトを含めた大型ほ乳類で主に代謝的熱産生に関わる骨格筋には、UCP2 と UCP3 が発現している。骨格筋の UCP2 と UCP3 の発現は寒冷暴露、甲状腺ホルモン投与、絶食などによって増加することが既に多く報告されているが、それらは *in vivo* での検討であるために UCP の発現調節に関わる因子や機構について十分に解析することが難しかった。そこで本研究では、培養筋細胞 L6 を用いて *in vitro* で UCP の発現調節機構について解析し、特に核内受容体と β -アドレナリン受容体の役割について検討した。

分化誘導によって筋管を形成した L6 には、UCP2 と UCP3 が発現していた。この分化 L6 筋管細胞に甲状腺ホルモンの T3、およびペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 (PPAR) の非選択的なりガンドである α -ブロモパルミチン酸とカルバサイクリンを 24 時間作用させると、用量依存的に UCP2 と UCP3 の mRNA 発現が増加した。しかし PPAR γ の選択的なりガンドである troglitazone や PPAR α の選択的なりガンドである WY-14643 を作用させても、UCP2 と UCP3 の発現量は変化しなかった。実際に分化 L6 筋管細胞の各 PPAR アイソフォームの発現量を逆転写-ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) 法で調べたところ、PPAR δ のみが検出された。また PPAR とヘテロダイマーを形成するレチノイド X 受容体 (RXR) のリガンドの 9-*cis* レチノイン酸を分化 L6 筋管細胞に作用させても、UCP2 と UCP3 の mRNA 発現量が用量依存的に増加した。これらの実験結果から、分化 L6 筋管細胞では、甲状腺ホルモン受容体 (TR)、RXR、および PPAR δ を刺激すると、UCP2 と UCP3 の発現が増加することが示された。

次に長鎖脂肪酸について検討した。長鎖脂肪酸は PPAR の非選択的なりガンドとして働くことが知られており、またラットやマウスおよびヒトでは、絶食させたり、中性脂肪とヘパリンを投与したり、 β 3-アドレナリン受容体作用薬を投与したりして、血中の遊離脂肪酸濃度を増加させると、骨格筋で UCP2 と UCP3 の発現が増加することが知られている。

そこで分化 L6 筋管細胞に種々の長鎖脂肪酸（オレイン酸、リノール酸、リノレン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸、および共役リノール酸）を作用させたところ、全ての長鎖脂肪酸で用量依存的に UCP2 と UCP3 の mRNA 発現が増加した。またアラキドン酸による UCP2 と UCP3 の発現増加作用は、シクロオキシゲナーゼ阻害薬存在下では特に変化がないが、リポオキシゲナーゼ阻害薬存在下で一部抑制された。これらの結果から、分化 L6 筋管細胞では、脂肪酸それ自身およびリポオキシゲナーゼの代謝物が、PPAR δ を刺激して UCP2 と UCP3 の発現を増加させることが示唆された。

最後に、 β -アドレナリン受容体について検討した。アドレナリンなどのカテコールアミンは、寒冷暴露時の熱産生に寄与していることがよく知られている。そこで分化 L6 筋管細胞にアドレナリンを作用させると、UCP2 と UCP3 の mRNA 発現が増加した。分化 L6 筋管細胞では β -アドレナリン受容体のうち β 2 のみが発現しており、イソプロテレノールやサルブタモールで β 2-アドレナリン受容体を刺激すると UCP2 と UCP3 の mRNA が増加し、プロプラノロールや ICI-118,551 で β 2-アドレナリン受容体を阻害すると、イソプロテレノール誘導性の UCP2 と UCP3 の mRNA 増加が抑制された。またジブチリル cAMP やフォルスコリンを作用させても、UCP2 と UCP3 の発現は増加した。これらのことから、アドレナリンは分化 L6 筋管細胞の β 2-アドレナリン受容体に作用し、細胞内の cAMP の蓄積作用によって UCP2 と UCP3 の発現を増加させることが示された。

以上のように、分化 L6 筋管細胞での UCP2 と UCP3 の mRNA 発現は、TR、PPAR δ 、RXR といった核内受容体と、 β 2-アドレナリン受容体の 2 系統の機構で正に調節されていることが明らかになった。従って *in vivo* で寒冷暴露時のように骨格筋での熱産生が増加する場合には、甲状腺ホルモンや長鎖脂肪酸、カテコールアミンの血中濃度が上昇し、これらが上記の受容体に作用して UCP2 と UCP3 の発現が増加し熱産生に寄与するものと考えられる。これらの機構を利用すれば、エネルギー消費機構を人為的に増加させ、肥満を予防・治療することも可能となるかもしれない。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 齊 藤 昌 之
副 査 教 授 葉 原 芳 昭
副 査 教 授 伊 藤 茂 男
副 査 助 教 授 木 村 和 弘

学 位 論 文 題 名

筋細胞における脱共役蛋白質 UCP の発現調節機構の解析

脱共役蛋白質 (uncoupling protein, UCP) は、エネルギー基質の酸化と ATP 合成を脱共役させて熱を産生するミトコンドリア膜蛋白質で、エネルギー消費に関わる分子種である。ヒトを含めたほ乳類でエネルギー代謝に大きな役割を果たす骨格筋には、UCP2 と UCP3 が発現している。本研究では、培養筋細胞 L6 を用いて UCP の発現調節機構について解析し、以下の知見を得た。

1. 甲状腺ホルモン、レチノイド X 受容体 (RXR) のリガンドの 9-cis レチノイン酸、およびペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 (PPAR) の非選択的なりガンドであるカルバサイクリンを作用させると、UCP2 と UCP3 の発現が増加した。L6 では、3 種類の PPAR のサブタイプのうち PPAR δ のみが発現しており、PPAR α と PPAR γ の選択的なりガンドを作用させても両 UCP の発現量は変化しなかった。これらの結果から、甲状腺ホルモン受容体 (TR)、RXR、および PPAR δ などの核内受容体によって、筋細胞の UCP の発現が調節されることが示唆された。

2. 生理的な PPAR のリガンドとして働くことが知られている種々の長鎖脂肪酸を作用させたところ、UCP2 と UCP3 の発現が増加した。またアラキドン酸による UCP2 と UCP3 の発現増加作用は、シクロオキシゲナーゼ阻害薬存在下では特に変化がないが、リポキシゲナーゼ阻害薬存在下で一部抑制された。これらの結果から、脂肪酸それ自身およびリポキシゲナーゼの代謝物によって、筋細胞の UCP の発現が増加することが示唆された。

3. 寒冷暴露時の熱産生に寄与するアドレナリンを作用させると、UCP2 と UCP3 の発現が増加した。L6 では β -アドレナリン受容体のうち β 2 のみが発現しており、 β 2-作用薬で UCP2 と UCP3 の発現が増加し、 β 2-阻害薬でその作用が抑制された。アドレナリンは β 2-アドレナリン受容体に作用し、筋細胞の UCP の発現を増加させることが示された。

以上のように、本論文は TR、RXR、PPAR δ などの核内受容体と β 2-アドレナリン受容体が筋細胞の UCP の発現調節に直接関与することを示したものであり、ほ乳類のエネルギー代謝調節機構の解明に大きく貢献するものである。よって審査員一同は、長瀬逸郎氏が博士 (獣医学) の学位を受ける資格が充分あると認めた。