

学 位 論 文 題 名

エネルギー代謝における脱共役タンパク質 1 (UCP1) の役割：
遺伝子改変マウスを用いた検討

学位論文内容の要旨

メタボリックシンドロームは、先進諸国を中心にその患者数が著しく増加しており、我が国でも深刻な社会問題になりつつあるが、その基盤にあるのが、肥満による内臓脂肪の蓄積とその機能異常である。肥満は、エネルギーの過剰摂取のみならず、運動や非ふるえ熱産生によるエネルギー消費の低下によって起こるが、エネルギー消費の自律的調節に関わっている機構の一つが、褐色脂肪組織 (brown adipose tissue, BAT) に特異的に存在する脱共役蛋白質 1 (uncoupling protein 1, UCP1) である。

UCP1 は、ミトコンドリア内膜に存在し、エネルギーを熱として散逸消費する働きを持つ分子である。UCP1 の活性は、BAT に密に分布する交感神経によって調節されている。すなわち、寒冷暴露や自発的多食などによる交感神経活動亢進に伴って神経終末から分泌されるノルエピネフリン (norepinephrine, NE) が、褐色脂肪細胞膜上の β -アドレナリン受容体 (β -adrenergic receptor, β -AR) に作用すると、ホルモン感受性リパーゼが活性化され、細胞内中性脂肪から脂肪酸が遊離する。この脂肪酸は UCP1 を直接活性化すると同時に熱産生基質として酸化分解される。同様の中性脂肪分解機構は白色脂肪組織 (white adipose tissue, WAT) にも存在するため、両者が活性化すると WAT から遊離した脂肪酸が BAT での UCP1 によって散逸消費されることとなり、エネルギー消費の増大による抗肥満効果が期待できる。そこで本研究の第一章では、脂肪細胞に存在する β 3-AR に着目して、これに対する選択的 β 3-AR 作動薬の効果と UCP1 の役割に関して、UCP1 欠損 (UCP1-knockout, UCP1-KO) マウスを用いて検討し、野生型 (wild type, WT) マウスでの結果と比較検討した。最初に、 β 3-AR 作動薬である CL316,243 (CL) を単回投与してその急性効果を調べたところ、WT マウスでは、個体レベルでの酸素消費が増加し、BAT や直腸温度が上昇したが、UCP1-KO マウスではその作用が大幅に減弱していた。しかし、血中遊離脂肪酸の応答は両マウスとも同程度にみられた。従って、UCP1-KO マウスは、 β 3-AR 刺激による WAT からの脂肪動員は正常に起こるものの、BAT における熱産生機能が欠失していることが確認された。次に、カフェテリア食を与えて長期間自発的多食にすると、WT、UCP1-KO いずれのマウスも肥満したが、その後、慢性的に CL 投与を行うと、WT マウスにおいてはこの食事性の肥満が改善されるが、UCP1-KO マウスにおいてはその効果はわずかししか認められないことが明らかになった。以上の結果から、 β 3-AR 刺激によって抗肥満作用が発揮される

ためには、WAT からの脂肪酸遊離を促すだけでは不十分であり、UCP1 の活性化による脂肪酸の消費が必須であると結論された。

第一章で明らかになったように、交感神経活動の亢進によって起こる BAT 熱産生の主なエネルギー源は脂肪酸であるが、この時グルコースの利用も亢進することが知られている。例えば、BAT もインスリン感受性臓器の一つでありその糖利用はインスリンによって増加するが、一方で寒冷暴露などのインスリン分泌が低下するような条件でも BAT での糖利用が増加する。この増加は交感神経の遮断によって消失し、交感神経の電気刺激や NE そのものの投与でも再現される。このような効果は、WAT や骨格筋などの他のインスリン感受性組織ではみられないので、BAT にはインスリンとは別に NE によって活性化される糖利用機構が存在すると考えられるが、その細胞内機構は不明である。そこで第二章では、BAT でのグルコース利用と UCP1 による熱産生との関係を明らかにするために、UCP1-KO マウスを用いて、BAT をはじめとする種々の臓器への 2-デオキシグルコース (2-DG) 取り込みに対する NE とインスリンの作用について調べ、WT マウスと比較検討した。WT マウスでは NE やインスリンの腹腔内投与により、BAT と心臓での 2-DG 取り込み量が増大した。一方、UCP1-KO マウスでは、BAT への 2-DG 取り込みに対するインスリンの促進効果は同程度に認められたものの、NE の効果は認められなかった。BAT のアデニンヌクレオチド含量を測定したところ、WT マウスでは、NE 投与によって AMP/ATP 比が上昇し、細胞内エネルギーレベルが低下したが、UCP1-KO マウスではそのような変化は認められなかった。NE によって WT マウスの BAT の AMP-activated protein kinase (AMPK) 活性が増加したが、UCP1-KO マウスでは変化しなかった。以上の結果から、交感神経活動の亢進による BAT における糖利用の亢進は、UCP1 の活性化 → 細胞内 AMP/ATP 比の上昇 → AMPK の活性化という一連の変化によって引き起こされることが明らかとなった。

以上のように今回の研究から、生体の脂肪エネルギー消費において UCP1 が重要な役割を果たしており、その活性化が体脂肪軽減・抗肥満に有効であることが明らかとなった。さらに、UCP1 の活性化はインスリンに依存しないグルコース利用も高めることも明らかとなった。従って、UCP1 の活性化は、肥満に伴う糖代謝障害を直接改善するのみならず、肥満軽減効果を介して間接的にも改善することとなる。このように本研究を通じて、内臓脂肪蓄積に伴うメタボリックシンドロームへの新しい対策が示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 齊 藤 昌 之

副 査 教 授 伊 藤 茂 男

副 査 助教授 木 村 和 弘

副 査 室 長 山 下 均 (国立長寿医療センター)

学 位 論 文 題 名

エネルギー代謝における脱共役タンパク質 1 (UCP1) の役割：

遺伝子改変マウスを用いた検討

糖尿病、高血圧、高脂血症を併発するメタボリックシンドロームの基盤にあるのが、肥満による内臓脂肪の蓄積とその機能異常である。肥満は、エネルギーの過剰摂取のみならず、運動や非ふるえ熱産生によるエネルギー消費の低下によっても起こるが、エネルギー消費の自律的調節に関わっている機構の一つが、褐色脂肪に特異的に存在する脱共役蛋白質 1 (uncoupling protein 1, UCP1) である。UCP1 はミトコンドリアでの酸化的リン酸化を脱共役して脂肪酸エネルギーを熱として散逸する熱産生分子であるが、in vivo でのエネルギー代謝における意義については不明な点が多かった。本研究では、動物丸ごとでの UCP1 の役割について、UCP1 ノックアウト(KO)マウスを用いて検討した。

まず、脂肪細胞に存在する $\beta 3$ アドレナリン受容体($\beta 3$ -AR)に着目して、選択的作動薬の効果について検討した。野生型(WT)マウスでは $\beta 3$ -AR 作動薬の投与によって白色脂肪での脂肪分解が起こり、遊離した脂肪酸が褐色脂肪で酸化分解されて熱として散逸され、2 週間後には体脂肪が減少することが確認された。しかし、UCP1-KO マウスでは白色脂肪での脂肪分解は正常通りであるが褐色脂肪での熱産生が起こらず、体脂肪も減少しなかった。従って、 $\beta 3$ -AR 作動薬の抗肥満効果には UCP1 が必須であると結論した。

肥満やメタボリックシンドロームでは、脂肪のみならず糖代謝も障害されている。そこで次に、in vivo でのグルコース代謝と UCP1 の関係について、褐色脂肪を始めとする様々な臓器への 2-deoxyglucose(2-DG)の取り込みを指標として検討した。WT マウスにノルエピネフリン(NE)を投与すると、褐色脂肪や心臓への 2-DG 取り込みが増加したが、骨格筋など他の臓器では変化しなかった。一方、UCP1-KO マウスでは褐色脂肪に対する NE の増加効果が消失したが、心臓や他の臓器への 2-DG 取り込みは WT マウスと同程度であった。この結果は、NE による褐色脂肪での 2-DG 取り込みには UCP1 が必須であることを示している。さらに、両マウスの反応の違いを比較検討した結果、NE $\rightarrow\beta$ -AR $\rightarrow$ UCP1 の活性化 $\rightarrow$ 酸化的リン酸化の脱共役 $\rightarrow$ ATP の減少と AMP の増加 $\rightarrow$ AMP-activated protein kinase の活性化 $\rightarrow$ グルコース輸送体を介する 2-DG 取り込みの増加という、インスリン非

依存性の細胞内機構の存在を示唆した。

以上のように本研究は、脂肪や糖の代謝に UCP1 が重要な役割を果たしていることを示したものであり、メタボリックシンドロームへの新しい対策を示唆している。よって審査員一同は上記学位論文提出者猪熊健一氏が博士（獣医学）の学位を授与されるに十分な資格を有するものと認めた。