

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08296

研究課題名(和文)モノアシルグリセロールリパーゼによる脂質ホメオスタシスの多面的制御メカニズム

研究課題名(英文)Roles for monoacylglycerol lipase in lipid homeostasis

研究代表者

北 芳博 (Kita, Yoshihiro)

東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・准教授

研究者番号：20401028

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、モノアシルグリセロールリパーゼ(MGL)のエネルギーホメオスタシスにおける役割を明らかにするために、MGL欠損マウスおよびCB1-MGL二重欠損マウスを用いた解析を行った。MGL欠損マウスは特に小腸における脂質吸収が遅延しており、これはカンナビノイド受容体CB1に非依存的な現象であることを見出した。MGL欠損マウスおよびCB1-MGL二重欠損マウスはいずれも脂肪負荷後に摂餌行動の強い抑制が見られることを見出し、これが迷走神経切除により部分的に回復することから迷走神経系による摂食行動の調節にMGLが関与する可能性を示唆することができた。

研究成果の概要(英文)：We evaluated the role(s) for monoacylglycerol lipase (MGL) in energy homeostasis, using MGL-deficient mice and CB1-MGL double-deficient mice. MGL-deficient mice showed delayed intestinal lipid absorption, which was completely CB1-independent, as CB1-MGL deficient mice but not CB1-single deficient mice showed a similar phenotype. Both MGL-deficient mice and CB1-MGL double-deficient mice, but not CB1-single deficient mice showed strong suppression in feeding behavior after lipid gavage. This phenotype was partially rescued by vagotomy, suggesting MGL's role in satiety regulation through gut-brain axis.

研究分野：脂質生化学

キーワード：脂質ホメオスタシス エネルギー代謝 肥満

1. 研究開始当初の背景

モノアシルグリセロールリパーゼ (MGL) は、様々なモノグリセリド分子種を加水分解する酵素である。同酵素は神経系においては生理活性脂質 2-アラキドノイルグリセロール (2-AG) を分解することにより CB1 受容体シグナルを介した中枢性の生理機能 (食欲、痛覚、記憶、脳内報酬系) に関与することが知られている。申請者自身の従前の成果も含め、MGL の生物学的意義は中枢性機能を中心に理解が進んできたが、同酵素は神経系以外の組織においても広範囲に発現がみられることや、2-AG 以外の様々なモノグリセリド分子種を分解する活性を有することなどから、末梢組織において固有の機能を持つ可能性が考えられる。

MGL がモノグリセリド代謝を通じてエネルギーホメオスタシスに関わる可能性を考え、遺伝子欠損マウスを用いて高脂肪食負荷による肥満・メタボリックシンドロームモデルの予備的検討を行ったところ、MGL 欠損マウスは高脂肪食負荷後の肥満およびメタボリックシンドロームの発症・進捗が顕著に抑制されることを見出ししていた。肥満抑制の主なメカニズムとしては脂肪吸収低下またはエネルギー消費の増大が可能性として考えられるが、申請者の予備的検討において、MGL 欠損マウスでは CB1 非依存的な様式で消化管からの脂肪吸収が著明に低下することを見出しつつあった。

2. 研究の目的

予備的知見から、MGL がエネルギーホメオスタシスに関わることは明らかと考えられるが、その具体的なメカニズムが全く不明であった。そこで、本研究課題では、遺伝子欠損マウスを用いた多面的な解析によりエネルギーホメオスタシスにおける MGL の役割を解明することを目的とした。

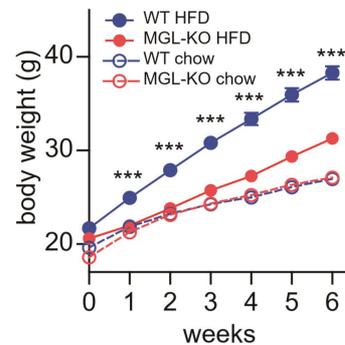
3. 研究の方法

MGL 遺伝子欠損マウスにおける肥満抑制について、体外からの脂肪消化吸収、体内における脂肪合成・分解、エネルギー消費のいずれにより説明可能であるかを、個別に詳細な解析を行い解明する。さらに、MGL がそれらの過程に具体的にどのように関わるかについて、脂質メタボローム解析による代謝解析および脂質因子探索を通じて明らかにする。加えて、MGL 欠損による高脂肪食忌避応答のメカニズムについて、脂肪吸収との関係を調べ、MGL が食欲関連因子等の制御に関わる可能性を調べる。

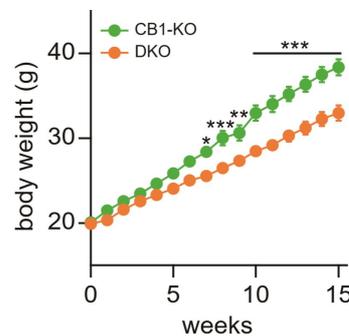
4. 研究成果

高脂肪食負荷による肥満誘導モデルにおいて、MGL 欠損マウスは野生型マウスに比べて顕著に体重増加の抑制が見られた (図 1)。また、CB1-MGL 二重欠損マウスを用いて同様の実験をしたところ、CB1-MGL 二

重欠損マウスは CB1 単独欠損マウスに比べて有意に体重増加量が減少していたことから (図 2) MGL 欠損による肥満抑制効果には少なくとも部分的にエンドカンナビノイド受容体 CB1 を介さないメカニズムがあることが示された。

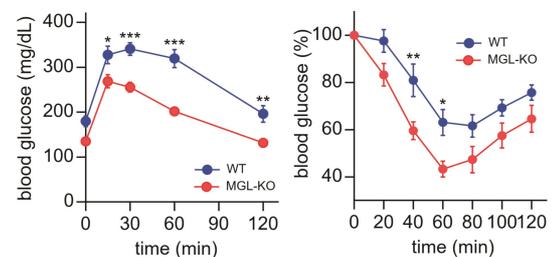


(図 1 MGL 欠損マウスは高脂肪食による肥満が抑制された)



(図 2 CB1-MGL 欠損マウスは高脂肪食による体重増加が CB1 単独欠損マウスより少なかった)

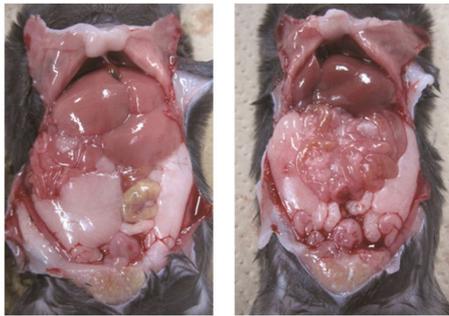
肥満誘導後に耐糖能試験およびインスリン感受性試験を実施したところ、MGL 欠損マウスは野生型マウスに比べ、耐糖能、インスリン感受性ともにより正常であった。



(図 3 高脂肪食肥満誘導後の MGL 欠損マウスの耐糖能およびインスリン感受性)

高脂肪食を長期投与 (~24 週間) した際には、MGL 欠損マウスも体重増加を認め野生型マウスとの差が少なくなったことから MGL 欠損マウスも肥満を呈することが確認されたが、耐糖能およびインスリン感受性はなお正常に保たれていた。また、肝臓への異所性脂肪蓄積が野生型マウスと比べ顕著に抑制されており (図 4) MGL 欠損は、肥満

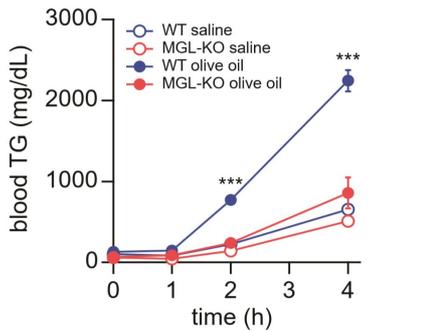
に伴うメタボリックシンドロームの症候を大きく改善すると考えられた。



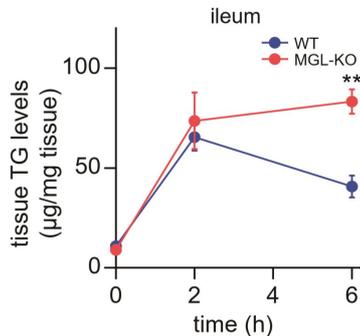
WT MGL-KO  
(図4 高脂肪食長期負荷後の脂肪蓄積)

MGL 欠損マウスと野生型マウスの摂餌料に違いはなく、また、MGL 欠損マウスの糞便中の脂質量は通常食飼育、高脂肪食飼育のいずれにおいても、野生型マウスとの間に差異を認めなかった。また、MGL 欠損マウスの CO<sub>2</sub> 消費量は野生型マウスと有意な違いを認めず、MGL 欠損マウスの抗肥満表現型は単純なエネルギー吸収量および消費速度の違いとして説明することは困難と考えられた。

リゾリン脂質リパーゼ (LPL) 阻害剤処置下で MGL 欠損マウスにオリーブオイルを強制経口投与した後の血中トリグリセリド量上昇は野生型マウスと比べて著明に減少しており (図5)、これは小腸における脂質吸収の遷延によることが分かった (図6)。

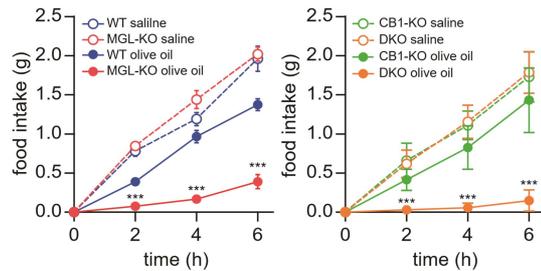


(図5 LPL 阻害剤処置下、経口オリーブオイル投与後の血中トリグリセリド濃度)



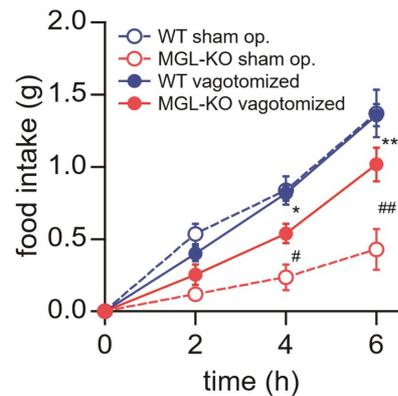
(図6 オリーブオイル経口投与後の回腸組織トリグリセリド)

MGL 欠損マウスにオリーブオイルを強制経口投与した後の摂餌量は、野生型マウスに比べて著しく抑制されることを見出した (図7)。この現象は、CB1 単独欠損マウスではみられず、CB1-MGL 二重欠損マウスにおいては MGL 欠損マウスと同様に見られたことから、CB1 非依存的なメカニズムであることが確認された (図7)。脂質を腹腔内投与した場合にはこの現象は見られなかったため、腸管による脂質吸収が重要であると考えられた。



(図7 オリーブオイル経口投与後の自発摂餌量 - 左: MGL 欠損マウス対野生型マウス 右: CB1-MGL 二重欠損マウス対 CB1 単独欠損マウス)

腸管を介した摂食行動の調節メカニズムについて調べるために、MGL 欠損マウスに予め迷走神経切除 (vagotomy) を行い、これに対してオリーブオイルを投与後の摂餌行動を評価したところ、摂餌量の抑制は部分的に回復した (図8)。このことから、MGL 欠損による脂肪摂取後の食欲抑制において、腸管と中枢をつなぐ迷走神経の寄与が示された。



(図8 迷走神経切除によるオリーブオイル投与後の摂餌量の回復)

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計5件)

1. Yoshihiro Kita, Kenji Yoshida, Suzumi M. Tokuoka, Fumie Hamano, Maya Yamazaki, Kenji Sakimura, Masanobu Kano, Takao Shimizu. Fever Is Mediated by Conversion of Endocannabinoid

- 2-Arachidonoylglycerol to Prostaglandin E2. PLoS One, 10 (2015) e0133663.
2. Yoshihiro Kita, Suzumi M. Tokuoka, Takao Shimizu. Mediator lipidomics by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids, 1862 (2017) 777-781.
3. Shimura, M., Shindou, H., Szyrwiel, L., Tokuoka, M.S., Hamano, F., Matsuyama, S., Okamoto, M., Matsunaga, A., Kita, Y., Ishizaka, Y., Yamauchi, K., Komura, Y., Lobinski, R., Shimizu, I., Shimizu, T. Imaging of Intracellular Fatty Acids by Scanning X-ray Fluorescence Microscopy. FASEB J., 30 (2016) 4149-4158.
4. Shindou Hideo, Shiraishi Seiji, Tokuoka Suzumi M., Takahashi Yoshikazu, Harayama Takeshi, Abe Takaya, Bando Kana, Miyano Kanako, Kita Yoshihiro, Uezono Yasuhito, Shimizu Takao. Relief from neuropathic pain by blocking of the platelet-activating factor-pain loop. FASEB J., 31 (2017) 2973-2980.
5. Valentine William J., Tokuoka Suzumi M., Hishikawa Daisuke, Kita Yoshihiro, Shindou Hideo, Shimizu Takao. LPAAT3 incorporates docosahexaenoic acid into skeletal muscle cell membranes and is upregulated by PPAR $\delta$  activation. J. Lipid Res., 59 (2017) 184-194.

〔学会発表〕(計1件)

1. 北 芳博、吉田憲司、徳岡涼美、浜野文三、江崎村建司、狩野方伸、清水孝雄 モノアシルグリセロールリパーゼによる脂質ホメオスタシスの制御 第38回日本分子生物学会年会/第88回日本生化学会大会 合同大会 2015年12月03日~2015年12月04日 神戸ポートアイランド

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北 芳博 (KITA, Yoshihiro)  
東京大学・大学院医学系研究科・准教授  
研究者番号：20401028

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

徳岡 涼美 (TOKUOKA, Suzumi. M.)  
東京大学 大学院医学系研究科・特任助教  
研究者番号：60511376

浜野 文三江 (HAMANO, Fumie)

国立研究開発法人国立国際医療研究センター・上級研究員  
研究者番号：80548511

(4) 研究協力者

なし