

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：12608

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19568

研究課題名(和文) 脂肪組織の増大を制御する機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of a regulatory mechanism of adipose tissue size

研究代表者

新谷 隆史 (Shintani, Takafumi)

東京工業大学・科学技術創成研究院・特任准教授

研究者番号：10312208

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,600,000円

研究成果の概要(和文)：受容体型チロシンホスファターゼの一つであるPTPROの遺伝子欠損マウス(Ptpro-KO)を高脂肪高ショ糖食で飼育すると、脂肪組織が著しく拡大することを見出した。そこで、Ptpro-KOマウスについて詳細な解析を行った。その結果、高脂肪高ショ糖食飼育下では、Ptpro-KOマウスでは継続した体重の増加が観察された。また、Ptpro-KOマウスの脂肪組織において肥大化した脂肪細胞が多数存在することが観察された。一方、肝臓については脂肪の蓄積が大きく抑制されていることが観察された。さらに、Ptpro-KOマウスでは耐糖能とインスリンへの応答性が野生型マウスに比べて亢進していることが観察された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肥満者においては、継続した過栄養状態により脂肪組織は拡大し、体重が増加する。脂肪組織が拡大する際には、脂肪細胞の肥大化と細胞数の増加が起こっている。しかしながら、脂肪組織の脂肪蓄積量には限界があると考えられており、未解明の分子機構によって脂肪細胞の肥大化と細胞数の増加が停止する。その結果、蓄積しきれなくなった脂肪は肝臓や筋肉などに沈着し、いわゆる異所性脂肪となる。本研究によって、PTPROが脂肪組織への脂肪蓄積の制御において重要な働きをしていることが明らかになった。本研究は、異所性脂肪が原因となるメタボリックシンドロームの新しい予防法や治療法を構築する上での重要な基盤となる知見である。

研究成果の概要(英文)：PTPRO is a receptor-type protein tyrosine phosphatase. I analyzed Ptpro-deficient mice (Ptpro-KO mice) fed on normal or high-fat high-sucrose diet. I found that Ptpro-KO mice exhibited an enlargement of adipocytes compared with wild-type mice when fed on a high-fat high-sucrose diet. In Ptpro-KO mice fed on high-fat high-sucrose diet, I observed a great reduction in the amount of ectopic fats in the liver. In addition, Ptpro-KO mice showed an improvement in glucose tolerance and insulin sensitivity compared with wild-type mice.

研究分野：栄養生化学

キーワード：脂肪組織 ホスファターゼ ノックアウトマウス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、先進諸国において肥満者の増加が大きな問題となっている。肥満は、メタボリックシンドロームや 2 型糖尿病、脂質異常症、高血圧症、脂肪肝・脂肪肝炎、動脈硬化症などの疾患や病態の原因となる。

肥満者においては、継続した過栄養状態により脂肪組織は拡大し、体重が増加する。脂肪組織が拡大する際には、脂肪細胞の肥大化と細胞数の増加が起こっている。しかしながら、脂肪組織の脂肪蓄積量には限界があると考えられており、未解明の分子機構によって脂肪細胞の肥大化と細胞数の増加が停止する。その結果、蓄積しきれなくなった脂肪は肝臓や筋肉などに沈着し、いわゆる異所性脂肪となる。異所性脂肪の沈着はインスリンが効きにくくなるインスリン抵抗性を誘導し、メタボリックシンドロームや様々な疾患や病態の要因となっている。

脂肪組織が増大する際には、脂肪細胞の肥大化と脂肪細胞数の増加が起こっている。脂肪細胞の直径は通常 80 μm 前後であるが、肥満者では肥大化し最大 140 μm にもなる。しかしながら、それ以上の肥大化は起こらないとされている。このため、脂肪細胞の大きさの上限を決めている未知の分子機構があると考えられている。一方、脂肪組織の増大にともない、脂肪細胞の増殖によって細胞数が増加することも分かっている。これもやがて停止するが、その分子機構もよく分かっていない。

2. 研究の目的

受容体型プロテインチロシンホスファターゼ (RPTPs) はタンパク質のチロシン残基に結合したリン酸基を加水分解する酵素群であり、プロテインチロシンキナーゼと協働することで、チロシンリン酸化を介した情報伝達において重要な役割を果たしている。ヒトゲノムには 21 種類の RPTPs が存在しており、構造上の相動性から 8 つのサブファミリーに分類される (図 1)。

我々は R3 サブファミリーに属する PTPRO の遺伝子欠損マウス (*Ptpro*-KO) を高脂肪高シヨ糖食で飼育すると、野生型マウスに比べて著しく肥満することを見出した (図 2)。さらに、これらの肥満マウスにおいては、野生型マウスに比べて脂肪組織が著しく拡大することを見出した。*PTPRO* は脂肪組織において高発現していることを新たに見出した。以上から、脂肪組織の脂肪蓄積量の限界を決めている分子機構に関与していると考えられる。そこで、本研究においては、*Ptpro*-KO マウスについて詳細な解析を行うことにより、脂肪組織における脂肪蓄積量の限界を決めている分子機構を明らかにすることを目的とした。

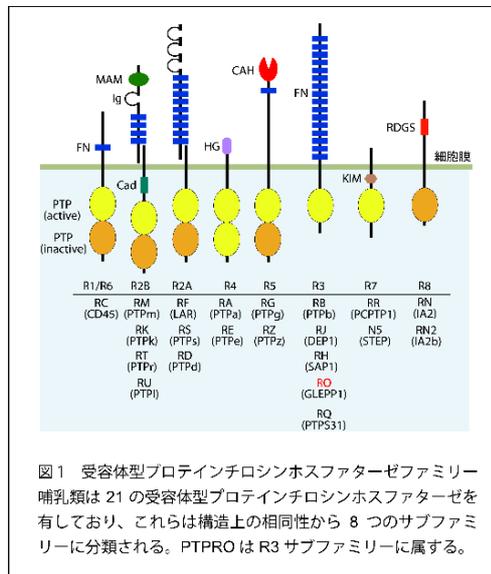


図1 受容体型プロテインチロシンホスファターゼファミリー哺乳類は 21 の受容体型プロテインチロシンホスファターゼを有しており、これらは構造上の相動性から 8 つのサブファミリーに分類される。*PTPRO* は R3 サブファミリーに属する。

3. 研究の方法

本研究においては、*PTPRO* の欠損によって生じる変化を明らかにするために、普通食 (CA-1) もしくは高脂肪高シヨ糖食で飼育した *Ptpro*-KO マウスと野生型マウスについて下記の解析を行った。

1) 生理学的解析

- 体重および摂食量の測定
- 耐糖能試験及びインスリン負荷試験

2) 組織学的解析

- 各臓器の重量の測定
- 脂肪組織、肝臓、脳等についての組織学的解析

3) 生化学的・分子生物学的解析

- 脂肪組織における代謝・炎症マーカーの解析

4. 研究成果

まず、体重について長期間にわたって測定したところ、普通食飼育下では野生型マウスと *Ptpro*-KO マウス間に有意差を認めなかった。ところが、高脂肪高シヨ糖食飼育下では、12 週齢以降に野生型マウスの体重増加が鈍化したのに対して、*Ptpro*-KO マウスでは継続した体重の増加が見られた (図 2)。その結果、40 週齢では野生型マウスの平均体重が約 58 グラムであったのに対して、*Ptpro*-KO マウスでは 80 グラムを超え、著しい過体重状態を示した。

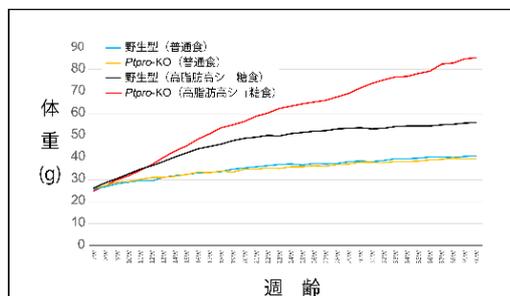


図2 *Ptpro*-KO マウスの体重変化

普通食および高脂肪高シヨ糖食で飼育した場合の野生型マウスおよび *Ptpro*-KO マウスの体重変化について調べた。その結果、高脂肪高シヨ糖食飼育の時に *Ptpro*-KO マウスは著しい肥満状態になることが明らかになった。

また、体重差が認められた期間の摂食量について調べたところ、高脂肪高シヨ糖食飼育下において野生型マウスに比べて *Ptpro*-KO マウスで摂食量が有意に多かった（データ未掲載）。

次に解剖学的解析を行った。その結果、肝臓と脂肪組織において、高脂肪高シヨ糖食飼育下で野生型マウスと *Ptpro*-KO マウス間に外見上の顕著な差を認めた。すなわち、野生型マウスに比べて *Ptpro*-KO マウスにおいて脂肪組織が拡大しており、逆に肝臓の大きさは減少していた（図3上）。実際に、*Ptpro*-KO マウスの肝重量は野生型マウスの約半分であった（図3下左）。またこの時、野生型マウスの肝臓は白っぽくなり脂肪肝の様相を呈したが、*Ptpro*-KO マウスの肝臓は赤色の正常な外観を示した（図3上）。

次に組織学的解析を行った。まず、肝臓について調べたところ、普通食飼育下では野生型マウスと *Ptpro*-KO マウス間に大きな差異を観察できなかったが（データ未掲載）、高脂肪高シヨ糖食飼育下の肝臓への中性脂肪の蓄積において両者間に大きな違いを見出した。すなわち、肝臓の凍結切片について中性脂肪親和性の蛍光色素(Bodipy FL)を用いた染色を行ったところ、野生型マウスにおいては、大量の中性脂肪が蓄積されている様子が観察されたのに対して、*Ptpro*-KO マウスの肝臓では野生型マウスにおいて見られた中性脂肪の蓄積が大きく抑制されていることが明らかになった（図3下）。

さらに、脂肪組織について解析を行った。その結果、普通食飼育下においては、野生型マウスと *Ptpro*-KO マウスとの差は見出せなかったが、高脂肪高シヨ糖食飼育下では野生型マウスに比べて *Ptpro*-KO マウスの精巢周囲をはじめとする各脂肪組織において重量が増大しているのが明らかになった（図4上左）。さらに、脂肪組織のパラフィン切片について解析を行ったところ、普通食飼育下においては野生型マウスと *Ptpro*-KO マウスとの間に違いを見出せなかったが、高脂肪高シヨ糖食飼育下では野生型マウスの脂肪組織に比べて *Ptpro*-KO マウスの脂肪組織において、より肥大化した脂肪細胞が多数存在することが観察された（図4下）。これらの組織切片について脂肪細胞の直径を測定し、比較を行ったところ、*Ptpro*-KO マウスの脂肪細胞の平均の直径が野生型マウスの約 1.3 倍までに増加していることが明らかになった（図4上右）。

以上の結果から、高脂肪高シヨ糖食飼育下では *Ptpro*-KO マウスの脂肪細胞の大きさが野生型マウスに比べて増加することによって脂肪組織への脂肪蓄積量が増大した結果、肝臓組織をはじめとする他臓器への異所性脂肪の蓄積が抑制されていると考えられた。

次に、高脂肪高シヨ糖食飼育下の *Ptpro*-KO マウスにおいて異所性脂肪が減少したことによって、インスリンに対する応答にどのような変化が生じるかについて明らかにするために、野生型マウスと *Ptpro*-KO マウスに対して耐糖能試験とインスリン負荷試験を行った。その結果、普通食飼育下では *Ptpro*-KO マウスの耐糖能が野生型マウスに比べて低下しているのが観察された（データ未掲載）。一方、高脂肪高シヨ糖食飼育下では逆に、*Ptpro*-KO マウスの耐糖能とインスリンへの応答性が野生型マウスに比べて亢進していることが観察された（図4）。すなわち、高脂肪高シヨ糖食飼育下の *Ptpro*-KO マウスでは、ブドウ糖の腹腔内投与によって生じる血糖値の上昇が野生型マウスに比べて低く抑えられるとともに、血糖

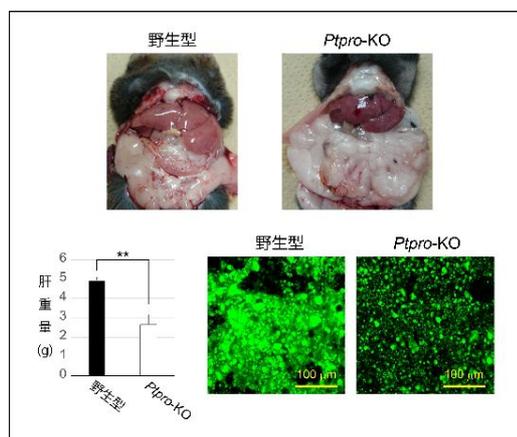


図3 *Ptpro*-KO マウス肝臓における脂肪沈着の減少
野生型マウスと *Ptpro*-KO マウスを高脂肪高シヨ糖食で3ヶ月間飼育した後、肝臓について解析した。その結果、*Ptpro*-KO マウスにおいて肝臓の重量が有意に低いことが明らかになった。また、脂肪親和性の蛍光色素を用いた染色により、*Ptpro*-KO マウスの肝臓における脂肪の蓄積が顕著に抑制されていることが観察された。

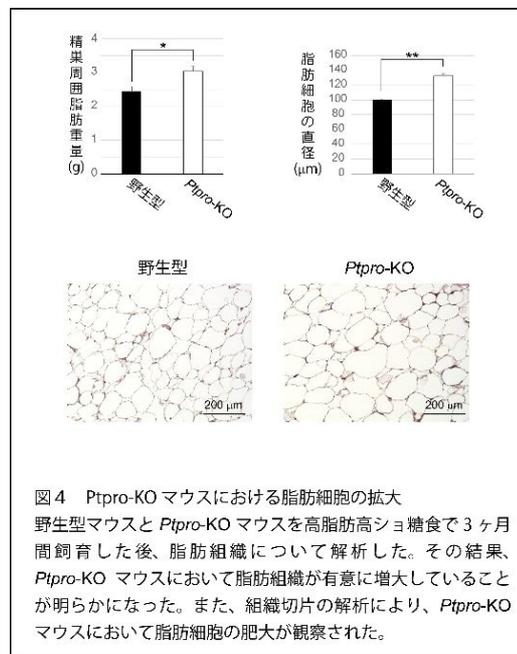


図4 *Ptpro*-KO マウスにおける脂肪細胞の拡大
野生型マウスと *Ptpro*-KO マウスを高脂肪高シヨ糖食で3ヶ月間飼育した後、脂肪組織について解析した。その結果、*Ptpro*-KO マウスにおいて脂肪組織が有意に増大していることが明らかになった。また、組織切片の解析により、*Ptpro*-KO マウスにおいて脂肪細胞の肥大が観察された。

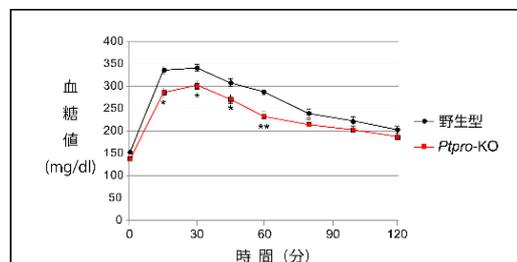


図5 *Ptpro*-KO マウスにおける耐糖能の改善
野生型マウスと *Ptpro*-KO マウスを高脂肪高シヨ糖食で3ヶ月間飼育した後、耐糖能について解析した。一晩絶食したマウスの腹腔内にグルコースを投与し、血糖値を経時的に測定した結果、*Ptpro*-KO マウスにおいて耐糖能が改善していることが明らかになった。

値の上昇が野生型マウスに比べて低く抑えられるとともに、血糖

値の低下も速やかであった。また、インスリン負荷試験によって、高脂肪高シヨ糖食飼育下の *Ptpro*-KO マウスでは、インスリンシグナルが野生型マウスに比べて顕著に高くなっていることが明らかになった（データ未掲載）。

さらに、脂肪組織における代謝マーカーや炎症マーカーの発現量の変化を定量 PCR によって解析したところ、野生型マウスに比べて *Ptpro*-KO マウスでは、炎症マーカーの発現が抑制されていることが明らかになった（データ未掲載）。

以上の結果から、高脂肪高シヨ糖食飼育下の *Ptpro*-KO マウスでは、脂肪細胞の肥大化が生じており、そのため脂肪組織への脂肪蓄積量が増加していると考えられる。そして、このように脂肪組織への脂肪蓄積量が増大したために他臓器への異所性脂肪の蓄積が抑制され、インスリン抵抗性が生じにくくなっていると考えられた。また、*Ptpro*-KO マウスにおける脂肪細胞の肥大には、炎症反応の抑制が関わっている可能性があることが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----