

高脂肪食による肥満発症の新機構解明 —小胞体ストレスによるレプチン抵抗性—

細井 徹

広島大学大学院医歯薬学総合研究科 講師

緒言

肥満は糖尿病、高脂血症、高血圧、動脈硬化症といった生活習慣病の主要な危険因子であり、環境因子や遺伝的因子などの多因子が関与している複雑な疾患である。ライフスタイルの欧米化に伴い、わが国の肥満者数は増加の一途をたどっており、肥満の発症・進展機構の解明と有力な治療法の開発は臨床医学の見地からもきわめて重要かつ急務の課題である。しかしながら、その原因及び治療方法については、不明な点が多いのが現状である。そこで本研究では、環境因子、特に食事によって誘発される肥満の病態を明らかにし、その責任因子ならびに創薬ターゲットを同定することを目的とした。

本研究における肥満発症の新機構解明と創薬に関して、今回は特に抗肥満因子として知られているレプチンに着目した¹⁾。レプチンは、脂肪細胞から分泌されるホルモンであり、主に脳に作用し、食欲の抑制とエネルギー消費の増大により体重を減少させる（図1）。従ってレプチン自身は、有効な抗肥満薬になると期待されていた。

しかし、肥満患者にレプチンを投与しても効果が認められないことが明らかになり、最近ではレプチン抵抗性が肥満の原因（レプチンが効かない→体重減少作用が惹起されない→肥満）として考えられている²⁾（図1）。従ってレプチン抵抗性改善薬は、肥満の治療に有効であると考えられる。しかしながら、レプチン抵抗性の病因およびレプチン抵抗性を標的とした有効な治療薬はいまだ不明な点が多い。一方で私達は最近、小胞体ストレスがレプチン抵抗性の原因であることを突き止めた³⁾。小胞体ストレスとは、構造異常蛋白質が細胞内に蓄積することによって生じるストレスのことを言い、近年、神経変性疾患などの疾患との関わりが明らかになっている⁴⁾。従って小胞体ストレス（の改善）を標的とした薬物はレプチン抵抗性、ひいては生活習慣病の改善に有効な新しいタイプの治療薬となり得る。そこで本研究では、小胞体ストレスに着目し、肥満（レプチン抵抗性）の原因を明らかにし、肥満に有効な薬物の探索を行う事を目的とした。

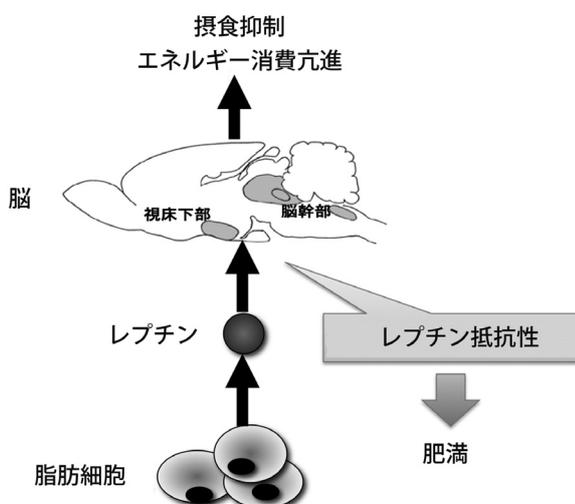


図1 レプチン抵抗性と肥満

レプチンは抗肥満作用を有しているが、近年レプチンの作用障害、すなわちレプチン抵抗性が肥満発症の原因として考えられている。しかし、レプチン抵抗性の分子機構については、ほとんど明らかにされていない。

材料及び方法

マウスは、C57/BL6 (雄) を用い、普通食 (10% Fat: Research Diets, D12450B) または高脂肪食 (60% Fat: Research Diets, D12492) を与え、週一回、体重を測定した。普通食または高脂肪食投与4ヶ月目において、レプチン i.v. (30 min) 投与後の視床下部を摘出した。レプチンシグナルの指標としては、レプチンにより活性化される STAT3 のリン酸化を Western blotting 解析により検討した (図2)。培養細胞は、Ob-Rb レプチン受容体を恒常的に発現させたヒト神経芽細胞腫 (SH-SY5Y-Ob-Rb cell line) を用いた。

結 果

高脂肪食によるレプチン抵抗性の誘発

4週齢のマウスに普通食または高脂肪食を与え、経時的 (一週間に一回) 体重を測定した。その結果、高脂肪食をマウスに与える事により、体重の有意な増加が観察された (図3A)。そこで、その時のマウスにおいてレ

プチン抵抗性が形成されている可能性に検討した。レプチンをマウスに投与30分後における脳 (視床下部) における STAT3 のリン酸化状態を検討した。検討の結果、図3Bで示される様に、通常のマウスにおいては、レプチンシグナルが正常に作動していた (STAT3 のリン酸化の上昇が観察されていた)。しかしながら、高脂肪食を与えたマウスにおいては、正常なレプチンシグナルが保持されておらずレプチン抵抗性状態であった (普通食を与えたマウスに比べ、レプチンによる STAT3 のリン酸化の低下が認められた)。従って、高脂肪食を与える事でレプチン抵抗性が形成される事⁵⁾ が、本実験系で確認された。

レプチン抵抗性の原因因子の同定

高脂肪食を与える事でレプチン抵抗性が形成されたことより、次にレプチン抵抗性に関わる因子の同定を試みた。今回用いた、普通食と高脂肪食の代表的な脂肪酸プロファイルを図4に示した。様々な予備検討を経て、今

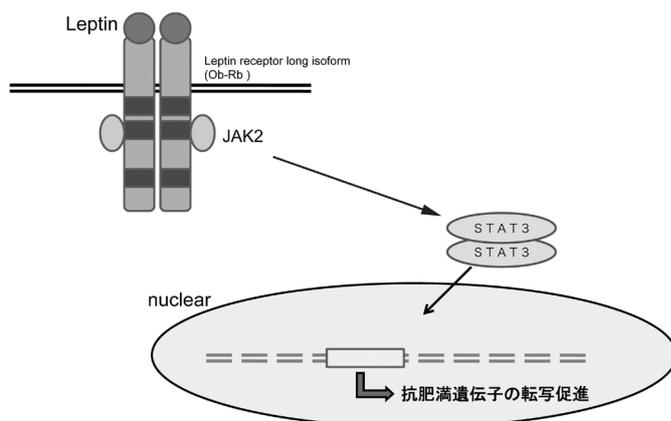


図2 レプチンによる細胞内情報伝達機構

レプチンが、Ob-Rb レプチン受容体に作用すると JAK2-STAT3 経路を活性化して、抗肥満遺伝子の誘導を惹起する。

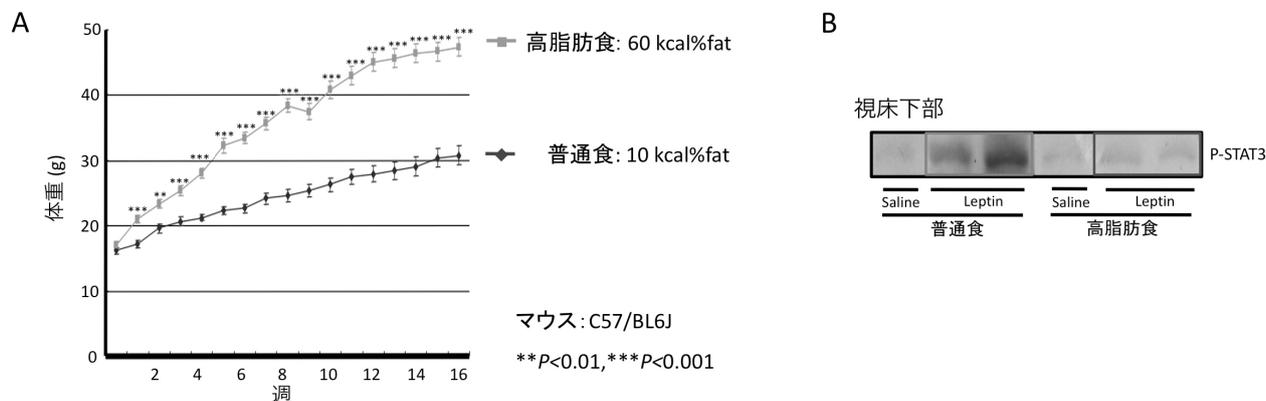


図3 高脂肪食によるレプチン抵抗性の誘発

マウスに高脂肪食を与えることで体重の増加が観察され、レプチンによる STAT3 の活性化が抑制されていた。

回、特に含有量が比較的高く、高脂肪食でその含有量が顕著に高いパルミチン酸に着目することとした。パルミチン酸は、飽和脂肪酸の一つであり、血液中の中性脂肪やコレステロールを増やす働きがあることがわかっている。また、過剰摂取は動脈硬化の原因になり、進行すると、脳卒中、狭心症、心筋梗塞の危険性があることが報告されている（図5A）。そこで、パルミチン酸が、レプチン抵抗性の原因因子の一つである可能性について検討を行った。培養細胞（SH-SY5Y-Ob-Rb細胞）を用いた検討の結果、レプチンによるSTAT3のリン酸化がパルミチン酸処理によって抑制されることが示唆された（図5B）。従って、パルミチン酸は、レプチン抵抗性形成に関わる原因因子の一つである可能性が示された。

レプチン抵抗性を標的とした抗肥満薬の探索

私達は、以前の研究から、小胞体ストレスがレプチン抵抗性の形成に関与している可能性を見出している³⁾。一方で、パルミチン酸は小胞体ストレスを誘発する⁶⁾。そこで次に、小胞体ストレスによるレプチン抵抗性に対

して、軽減作用のある薬物の探索を試みた。その結果、培養細胞およびマウス個体レベルにおいて抗肥満作用を有する可能性がある候補薬物の同定に成功した。今後、本薬物のより詳細な薬理作用の解明を進めたいと考えている。

考 察

肥満の病態時においては、炎症反応も惹起されており、免疫系の異常と肥満との関わりも明らかになりつつある。さらに、近年、飽和脂肪酸が自然免疫系に関わる受容体である toll like receptor 4 (TLR4) を活性化することが報告されている⁷⁾。また最近、小胞体ストレスと免疫系の関わりも明らかにされてきていることから、肥満の病態形成には、脂肪酸—免疫系—小胞体ストレスのクロストークが強く示唆される。今回、私達の検討の結果から、パルミチン酸がレプチン抵抗性の形成要因となる可能性が見出された。今後は、本研究結果に基づき、上記メカニズムの解明を急ぎたいと考えている。

Fatty acid	コントロール食	高脂肪食
C14, Myristic	0.2	2.2
C14:1, Myristoleic	0.1	1.2
C16, Palmitic	7.2	58.7
C16:1, Palmitoleic	0.8	9.3
C18, Stearic	3.6	33.5
C18:1, Oleic	14.3	106.8
C18:2, Linoleic	15.1	34.4
C18:3, Linolenic	2.2	4.4
C20:4, Arachidonic	0.3	4.2
Saturated (g)	11.0	94.4
Monounsaturated (g)	15.2	117.3
Polyunsaturated (g)	17.6	43.0

図4 今回用いたマウス餌の代表的な脂肪酸プロファイル (g/4057kcal)

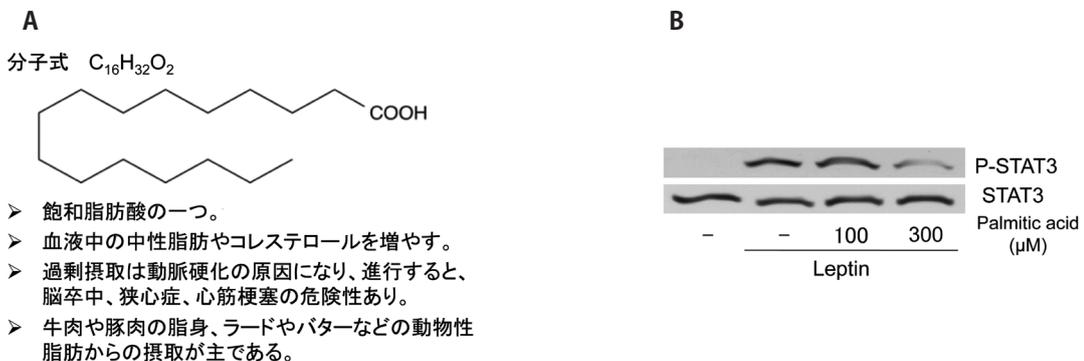


図5 パルミチン酸によるレプチン抵抗性の誘発

A) パルミチン酸の生理作用 B) パルミチン酸はレプチンによるSTAT3のリン酸化を抑制した

要 約

肥満の主な原因として、レプチン抵抗性が肥満の原因（レプチンが効かない→体重減少作用が惹起されない→肥満）として考えられている。マウスを用いた検討の結果、高脂肪食によって、レプチン抵抗性が形成されていることが確認された。そこで次に、高脂肪食の成分に含まれ、飽和脂肪酸として知られているパルミチン酸に着目した。培養細胞を用いた検討の結果、レプチン抵抗性の原因因子として、パルミチン酸が関わっている可能性を見出した。また、レプチン抵抗性を指標に、その改善薬を探索した結果、候補薬物を見出すに至った。

謝 辞

本研究にご援助戴きました、財団法人三島海雲記念財団に心から感謝申し上げます。

文 献

- 1) Y. Zhang, et al.: *Nature*, **372**, 425-432, 1994.
- 2) H. Münzberg, M.G. Jr. Myers, : *Nat. Neurosci.* **8**, 566-570, 2005.
- 3) T. Hosoi, et al.: *Mol. Pharmacol.* **74**, 1610-1619, 2008.
- 4) C. Xu, et al.: *J. Clin. Invest.* **115**, 2656-2664, 2005.
- 5) K. El-Haschimi, et al.: *J. Clin. Invest.* **105**, 1827-1832, 2000.
- 6) I. Kharroubi, et al.: *Endocrinology* **145**, 5087-5096, 2004.
- 7) J.Y. Lee, et al.: *J. Biol. Chem.* **276**, 16683-16689, 2001.