

論文内容要旨

生体のエネルギー代謝を制御する
PRIP 分子の機能解析研究

主指導教員：入船 正浩教授

(統合健康科学部門歯科麻酔学)

副指導教員：兼松 隆教授

(基礎生命科学部門細胞分子薬理学)

副指導教員：津賀 一弘教授

(応用生命科学部門先端歯科補綴学)

大植 香菜

(医歯薬学総合研究科 展開医科学専攻)

脂肪細胞の脂肪滴に蓄えられている中性脂肪 (TAG) は、飢餓などの必要時に応じて分解され、全身にエネルギー源として供給される。この脂肪動員のメカニズムには、プロテインキナーゼ A (PKA) によるホルモン感受性リパーゼ (HSL) とペリリピンのリン酸化が関与する。こうした PKA が仲介する脂肪分解のメカニズムはよく研究されている。一方、脂肪分解を抑制的に制御するメカニズムに関しては、タンパク質の脱リン酸化酵素が関わるとの報告があるもののその詳細な分子メカニズムは分かっていない。我々は、Ins(1,4,5)P₃ 結合性分子 PRIP (PLC-related catalytically inactive protein) がタンパク質脱リン酸化酵素の protein phosphatase (PP) 1 や PP2A と複合体を形成することを見出した。PRIP 遺伝子ノックアウトマウス (*Prip*-DKO) では、野生型 (WT) マウスと比べて脂肪組織が矮小であった。そこで、本研究において PRIP が脱リン酸化酵素の機能を制御して脂肪分解を負に調節しているか調べた。普通食を自由摂食させた場合、*Prip*-DKO マウスは WT マウスと比較して、過食にも関わらず体重が軽く痩せており、脂肪量が少なかった。体長や脂肪組織以外の臓器の重量は WT と同程度であった。よって、*Prip*-DKO マウスの脂肪組織では、脂質代謝異常を起こしていることが考えられた。WT マウスと比較すると *Prip*-DKO マウスの脂肪組織では HSL のリン酸化レベルが恒常的に高く、これに伴い、*Prip*-DKO マウスの血清中の遊離脂肪酸濃度とグリセロールの濃度も高い値を示した。マウスの精巣上体周囲白色脂肪組織を器官培養し、異化ホルモンであるアドレナリンで刺激したところ、WT の白色脂肪組織では PRIP と PP2A はサイトゾルから脂肪滴へと移行した。しかしながら、*Prip*-DKO の白色脂肪組織では PP2A の脂肪滴への移行が著しく減少していた。これと一致して、*Prip*-DKO の白色脂肪組織の脂肪滴分画での脱リン酸化活性も著しく減少した。また、器官培養した白色脂肪片を予めアドレナリンで刺激しておき、脱リン酸化過程を経時的に解析した結果、*Prip*-DKO 白色脂肪組織片で有意にその脱リン酸化過程が障害されていた。以上より、PRIP は脱リン酸化酵素の脂肪滴への移行を促し、PKA が仲介する脂肪分解系を負に制御する分子であることが明らかとなった。*Prip*-DKO マウスでは、タンパク質脱リン酸化酵素の脂肪滴への移行が適切に起こらないため、HSL やペリリピンのリン酸化が恒常的に高く保たれ、脂肪分解活性が亢進しているために脂肪蓄積が起きにくいと考えられた。

エネルギー代謝機構における PRIP の役割を調べるために、WT と *Prip*-DKO マウスの呼吸代謝を測定した。*Prip*-DKO マウスは WT マウスと比較して、酸素消費量・二酸化炭素産生量共に亢進しており、エネルギー消費が有意に上昇していた。さらに、*Prip*-DKO マウスでは活動期 (暗期) の体温も上昇していた。そこで熱産生とエネルギー代謝に関係している褐色脂肪組織を調べたところ、*Prip*-DKO マウスにおいて熱産生タンパク質である脱共益タンパク質 1 (uncoupling protein 1; UCP1) の発現量が増加していた。つまり、*Prip*-DKO マウスでは熱産生系が亢進していることが分かった。*Prip*-DKO マウスの褐色脂

肪細胞中の脂肪滴の大きさは有意に小さく、HSL のリン酸化レベルも高かった。褐色脂肪組織は白色脂肪組織と同様に、交感神経系の刺激により PKA を活性化し HSL やペリリピンがリン酸化され、細胞内に存在する TAG の分解を促進し脂肪酸を細胞内に遊離する。褐色脂肪組織での UCP1 による熱産生の主な熱源はこの細胞内に蓄積されている脂肪酸であり、これによって UCP1 の熱産生が活性化される。*Prip*-DKO マウスでは褐色脂肪組織での脂肪分解も亢進しており、UCP1 活性が増強されて熱産生が上がり、体温の上昇やエネルギー消費が亢進していると結論づけた。

次に食事誘引性の肥満に対する影響をみるために、離乳直後 5 週齢より 20 週齢まで、WT と *Prip*-DKO マウスそれぞれに高脂肪食を自由摂食させた。WT マウスでは高度肥満を呈したのに対して、*Prip*-DKO マウスでは有意に体重は軽く、脂肪量も少なかった。体長や他の臓器重量は WT と大きな差を認めなかった。脂肪組織切片では白色脂肪組織と褐色脂肪組織どちらも *Prip*-DKO マウスで脂肪滴が有意に小さく、高脂肪食に対して *Prip*-DKO マウスは耐肥満性を示した。また、WT マウスではインスリン抵抗性や血糖値の上昇などの耐糖能異常を認めたが、*Prip*-DKO マウスでは異常を認めなかった。

レプチンは、蓄積している中性脂肪の量に応じて主に白色脂肪細胞より分泌され、視床下部に作用して摂食を抑制するホルモンである。この脳内でのシグナルは、交感神経活動を亢進させエネルギー消費を促進し、短期的な栄養過多の状態に対してフィードバック機構を働かせる。一方、長期的な栄養過剰に伴う肝のグルコキナーゼ (GK) 発現増加は、肝から脳幹への求心性迷走神経を介して交感神経刺激による褐色脂肪組織の熱産生を抑制し、レプチンによるエネルギー消費亢進に拮抗しエネルギー消費を低下させ肥満を助長する。WT と *Prip*-DKO マウスの肝臓中の GK の mRNA の発現量を測定したところ、通常食群と高脂肪食群双方において、WT と比較して *Prip*-DKO で発現量は有意に減少していた。このことは、*Prip*-DKO マウスでは恒常的に遠心性の交感神経活動抑制系が脆弱であり褐色脂肪組織での熱産生 (エネルギー消費) が亢進しやすい状態になっていると言える。

以上より、*Prip*-DKO マウスでは、PRIP によるタンパク質脱リン酸化酵素の脂肪滴への移行が適切に起こらず、恒常的に脂肪分解が亢進した状態であり、またエネルギー消費系においても、褐色脂肪組織での熱産生が活性化されておりエネルギー消費が亢進している。そして、これらが相まって高脂肪食による栄養過多状態においても耐肥満性を示していると考えられる。本研究より PRIP は、個体のエネルギー代謝の制御に関与している新たな鍵分子であることが分かった。