

本研究は、レプチン—摂食やエネルギー代謝を調節し、血糖低下作用や脂質代謝改善作用を持つホルモンである—において、レプチンの血糖低下作用に脂肪細胞の脂肪分解が関与しているのか、またレプチンによる血糖低下作用のメカニズムは何か、を明らかにするため行なわれた。そして以下2つを示唆する結果を得ている。1. 脂肪重量とレプチンの血糖低下作用に関連がある可能性、2. アデノウイルスによるレプチン過剰発現の野生型マウスは、絶食時に重症低血糖となるが、このとき糖新生経路が酵素活性レベルで障害されている可能性である。

1. 脂肪細胞における中性脂肪分解活性が約 50%に減弱しているホルモン感受性リパーゼ (Hormone sensitive lipase; HSL) の欠損マウス (Knockout; KO) と野生型マウス (Wild type; WT) に浸透圧ポンプを用いてレプチンを皮下持続投与し、摂食量、体重、血糖の推移、絶食時の血糖の推移とその直後の臓器重量を検討した。その結果、WT、HSLKO ともにレプチン群で摂食量や体重の減少はみられたが血糖値の低下はみられず WT と HSLKO の群間差もみられなかった。ただ、絶食時の血糖値について、WT、HSLKO ともにレプチン群でコントロール群より低値の傾向がみられ、脂肪重量は有意な減少を認めた。次に検討した WT のレプチン過剰発現モデルでは、レプチンにより脂肪重量が肉眼的に消失するほど著明に減少し、絶食時には重症低血糖をきたした。このことから、レプチン投与時に脂肪が減少した場合にはレプチンの血糖低下作用に影響がある可能性が示唆された。
2. WT にレプチン過剰発現アデノウイルスを経頸静脈的に投与し、血糖低下の原因となりうる以下3つについて検討した。(i) 摂食量減少、(ii) インスリンやカウンターホルモン異常、(iii) 肝糖新生の障害
 - (i) WT をレプチン群、Pairfed 群、LacZ 群に分けて検討した。Pairfed 群は LacZ 発現アデノウイルスを投与したうえで摂食量をレプチン群と同一にした群である。レプチン群の摂食量を翌日 Pairfed 群に投与した。その結果、Pairfed 群はレプチン群と同程度に体重が有意に減少したが、アデノウイルス投与 6 日目に 5 時間の絶食とした際の血糖値は低血糖をきたさず推移した。よって摂食量が低血糖の原因とは考えられなかった。
 - (ii)レプチン群、Pairfed 群、LacZ 群の 3 群で、アデノウイルス投与 6 日目に絶食とし、0、2、5 時間後の血漿インスリン濃度やカウンターホルモン濃度を測定した。その結果、絶食下で低血糖となったレプチン群は、インスリン濃度は感度以下で、グルカゴン濃度は高値で

あり、成長ホルモン、コルチコステロン、 α -グレリン濃度は抑制されていなかった。よって、レプチン過剰発現の WT で絶食時低血糖の原因は、インスリン過分泌やカウンターホルモンの抑制ではないことが示唆された。

(iii)

A. 糖新生酵素遺伝子発現について、グルコース 6-ホスファターゼは上昇し、ホスホエノールピルビン酸カルボキシナーゼは阻害されていなかった。レプチン群でピルビン酸カルボキシラーゼの発現は低下を認めたため、これが低血糖の原因として否定はできなかったが、メタボローム解析で 3-ホスホグリセリン酸 (3PG) まで糖新生が進行していたことから、このことが低血糖の直接的原因とは考えにくい。

B. 糖新生基質濃度について、絶食 5 時間後の乳酸、ピルビン酸はレプチン群で低値であり、一方代表的糖新生アミノ酸であるアラニンは、レプチン群で高値であった。そのほかの糖原性アミノ酸濃度は LacZ 群や Pairfed 群と比較し同程度から高値であった。よって低血糖の原因として基質濃度の低下もしくは上昇不十分による可能性を否定はできなかった。そこで、糖新生基質やエネルギー源の補給実験を行ったがいずれの物質を投与しても低血糖はレスキューされなかった。よって、糖新生の基質不足は低血糖の原因としては説明がつかなかった。

C. 次に糖新生経路が酵素活性レベルで障害されている可能性を考え障害部位の特定のため絶食 5 時間後の肝を用いてメタボローム解析を行った。その結果、レプチン群では糖新生基質である 3PG が蓄積しグリセルアルデヒド-3-リン酸以降が著明低値であり、糖新生が 3PG 以降障害されていることが示唆された。3PG 以降の糖新生に関与する酵素である 3-ホスホグリセリン酸キナーゼには ATP が必要であるが、今回 ATP 濃度はレプチン群で低値であった。また、アセチル CoA や CoA 濃度の低値もみられた。以上からレプチン過剰発現下の WT ではこれらの因子の不足により糖新生酵素の活性がアロステリックに阻害されている可能性が考えられた。アセチル CoA、CoA、ATP の低下から、レプチン過剰発現で絶食時の低血糖では、WT の生体内においてエネルギーが極度に低下状態にあったことが示唆された。

以上、本論文は、レプチンの血糖低下作用に脂肪重量が関与する可能性を示唆し、血糖低下のメカニズムについての新しい知見を加えることができた。現在臨床応用が期待されているレプチンの血糖低下作用に関して、そのメカニズムの解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと判断した。