

論文の内容の要旨

論文題目 遺伝子欠損マウスを用いたモノアシルグリセロールリパーゼの生理機能の解明

氏名 吉田 憲司

メタボリックシンドロームは、内臓脂肪型肥満に加え高血糖、高血圧、脂質異常症のうちいずれか二つ以上を併せ持った状態であり、糖尿病や動脈硬化性疾患の発症リスクの高まった病態である。内臓脂肪組織の肥大は血中の遊離脂肪酸（FFA）濃度を高め、インスリン抵抗性や慢性炎症を引き起こすと考えられている。

中性脂肪、即ちトリアシルグリセロール（TG）は脂肪酸（FA）の脂肪組織における貯蔵形態であり、必要に応じて脂肪分解によりジアシルグリセロール（DG）やモノアシルグリセロール（MG）に代謝されることで末梢組織のエネルギー源となる FFA を循環中に供給する。一方、エネルギー過多の状態においては、脂肪酸は脂肪組織に取り込まれ TG に再合成される。TG の分解と再合成を担う代謝酵素の働きは脂質ホメオスタシス維持のために重要であり、その機能異常はメタボリックシンドロームの発症や増悪に関係すると考えられる。

モノアシルグリセロールリパーゼ（MGL）は MG を FA とグリセロールに分解し、脂肪分解の最終段階を担う酵素であるが、脂肪分解の研究は TG や DG を分解する ATGL (adipose triglyceride lipase) および HSL (hormone-sensitive lipase) に関する研究が主であり、MGL の意義およびメタボリックシンドロームとの関係については、これまで詳細な検討はなされてこなかった。一方、MGL は神経系では生理活性脂質 2-アラキドノイルグリセロール (2-AG) の分解酵素として近年その生理的意義が明らかになりつつある。脳に豊富に存在する MG である 2-AG は CB1 カンナビノイド受容体の内在性リガンドであり、食欲、痛覚、記憶、脳内報酬系などに関わることが知られているが、最近では、2-AG-CB1 受容体シグナルはエネルギー代謝に関わるという報告もなされるようになった。

そこで本研究では、MGL の脂質ホメオスタシスにおける機能を解明することを目的に、MGL 欠損マウスを用いて高脂肪食誘導性肥満モデルの解析を行った。

まず、マウス組織を用いて MGL および CB1 受容体の組織発現分布を調べた。その結果、CB1 受容体は脳に局限した発現分布を示すのに対し、MGL は脳以外にも肝臓を始めとする

多くの末梢組織に発現が認められた。また末梢組織の中でも特に強い発現を示した臓器が、脂肪組織（精巣上体周囲白色脂肪組織、鼠蹊部皮下白色脂肪組織、肩甲骨間褐色脂肪組織）であった。肝臓や白色脂肪組織において MGL 活性が確認され、MGL 欠損マウスでは MG が組織中に蓄積していた。

通常食で飼育した場合には野生型マウスと MGL 欠損マウスの間に摂食量、体重、組織重量、耐糖能について差は見られなかったが、高脂肪食を負荷すると野生型マウスで生じるような劇的な体重増加や組織重量の増加が MGL 欠損マウスにおいて顕著に抑制された。また、耐糖能異常についても MGL 欠損マウスは改善しており、野生型で生じる脂肪細胞の肥大化や脂肪組織へのマクロファージの浸潤が MGL 欠損マウスでは顕著に抑制されていた。

MGL 欠損マウスでは通常食から高脂肪食に変更した際に一過的な摂食量の減少が見られたが、MGL 欠損マウスと野生型マウスの摂食量が同じになるように野生型マウスの高脂肪食摂取量を調節した条件下でも MGL 欠損マウスは野生型マウスよりも高脂肪食による体重増加が抑制される結果が得られ、MGL 欠損マウスの抗肥満作用は摂餌量とは無関係であることが示された。

MGL 欠損マウスにおいて見られた高脂肪食負荷に対する抗肥満の表現型は、脳やその他の組織における 2-AG-CB1 受容体系により説明される可能性がある。そこで、CB1 受容体/MGL 二重欠損マウスを作出し、CB1 受容体欠損マウスを対照群に高脂肪食誘導性肥満モデルの解析を行った。その結果、CB1 受容体/MGL 二重欠損マウスは CB1 受容体欠損マウスに比べて高脂肪食で生じる体重増加、肝臓や脂肪組織重量の増加が抑制されていた。また耐糖能異常についても改善していた。即ち、MGL 欠損による抗肥満効果は CB1 受容体非存在下でも確認されたことから、MGL は 2-AG-CB1 受容体系に依存しない様式で肥満誘導に関わることが示唆された。

MGL 欠損マウスの抗肥満メカニズムは、摂取エネルギー量の減少または消費エネルギー量の増加により説明されると考えられる。MGL 欠損マウスは野生型マウスの摂餌量の違いは肥満誘導とは無関係であったため、消化管における脂質の吸収に違いがないかを検討した。オリーブオイルを経口投与した後の血中 TG 濃度の上昇を指標に脂質吸収能を評価すると、MGL 欠損マウスは投与後の血中 TG 濃度の上昇は見られるものの野生型マウスと比較して有意に抑制されていた。一方、脂質を腹腔内投与した際には血中 TG 濃度の上昇に野生型との差が見られなかったことから、MGL 欠損マウスでは腸管における脂質吸収が低下している可能性が示唆された。オリーブオイル経口投与後の空腸における脂質を LC-MS/MS により解析すると、脂質吸収の過程で見られる MG、DG および FFA の上昇が MGL 欠損マウスで抑制される傾向にあった。MGL の小腸における mRNA 発現量は他の組織に比べて低かったが、MGL 酵素活性は脂肪組織や脳に準ずる活性が認められた。CB1 受容体欠損マウスおよび CB1 受容体/MGL 二重欠損マウスを比較した場合においても同様の実験結果が得

られたことからこの表現型は **CB1** 受容体に依存しないと考えられた。

MGL 欠損マウスを高脂肪食負荷した際に見られる肥満の抑制は、脂質吸収の低下以外にも、エネルギー消費の変化によって説明される可能性がある。飢餓や寒冷刺激などにより誘導される白色脂肪組織における脂肪分解は、脂肪酸 β 酸化や褐色脂肪組織における熱産生を引き起こす。**MGL** 欠損マウスに $\beta 3$ 受容体アゴニストを投与した場合、野生型マウスと比較して血中脂肪酸、グリセロール濃度の上昇が抑制された。野生型マウスと **MGL** 欠損マウスを寒冷刺激下 (4°C) におくと、有意差は得られなかったが、**MGL** 欠損マウスは野生型マウスよりも若干低い体温を示した。**CB1** 受容体欠損マウスおよび **CB1** 受容体/**MGL** 二重欠損マウスを用いた場合においても同様の傾向が得られた。これらの結果から、**MGL** 欠損マウスは脂肪分解による熱産生能が低い可能性が考えられ、**MGL** 欠損による抗肥満の表現型を説明するものではないと考えられた。

MGL 欠損マウスに高脂肪食を与えた際に一過的な摂餌量低下がみられ、この表現型が **CB1** 受容体に依存しなかったことから、**MGL** は新規のメカニズムで摂食行動を調節する可能性が考えられた。そこでまず、**MGL** 欠損がマウスの高脂肪食に対する嗜好性に影響するかどうかを行動学的手法により検討した。それぞれ通常食と高脂肪食の入った 2 つの餌箱をマウスに与えて摂餌量を測定すると、野生型マウスは 1 日目から通常食より高脂肪食を好んで摂取し、2 日目以降は通常食をほとんど食べなくなったのに対し、**MGL** 欠損マウスでは、高脂肪食の摂取量は徐々に増加するという違いが見られた。同じ実験を **CB1** 欠損マウスおよび **CB1/MGL** 二重欠損マウスを用いて行くと、両遺伝子型ともに、野生型マウスに比べて高脂肪食嗜好性の大幅な低下が見られたが、**CB1/MGL** 二重欠損マウスは **CB1** 単独欠損マウスと比べてより高脂肪食への嗜好性が低い傾向にあった。

次に脂質を摂取した後の摂餌行動を検討した。16 時間絶食したマウスにオリーブオイルを経口投与しその後の摂餌量を測定したところ、**MGL** 欠損マウスの摂餌量は野生型マウスと比較して顕著に少なかった。**CB1** 受容体欠損マウスおよび **CB1** 受容体/**MGL** 二重欠損マウスを比較した場合においても同様の結果が得られた。一方、野生型マウスと **MGL** 欠損マウスに生理食塩水を経口投与した際、およびオリーブオイルを腹腔内投与した際の摂餌量には差が見られなかった。このことから **MGL** 欠損マウスでみられた摂食抑制には消化管からの脂質吸収が必要だと考えられた。腸管から分泌される摂食抑制ホルモンは脂質を始めたとする栄養素が引き金となって分泌され、迷走神経を介して脳へと情報を伝達する。そこで野生型マウスおよび **MGL** 欠損マウスに迷走神経切除術を施し、オリーブオイル経口投与後の摂餌量について検討したところ、**MGL** 欠損マウスにおける摂食量の減少が有意に回復した。以上から、**MGL** 欠損による脂質経口摂取後の摂餌量の低下は迷走神経を介したメカニズムによって生じることがわかった。

以上より、本研究において私は、**MGL** は高脂肪食による肥満誘導に重要な酵素であることを示した。また、そのメカニズムとして、**MGL** が腸管における脂質吸収機構に関わる可能性を示した。さらに、**MGL** が迷走神経を介したメカニズムで脂肪摂取後の摂食行動を制御していることを示した。これらの表現型はいずれも **CB1** 受容体に依存しないことを示した。本研究により、**MGL** は従来知られていたエンドカンナビノイド系の調節機能に加え、摂食行動や脂肪吸収、脂肪分解など、様々な生理機能を担う酵素であることが明らかとなった。