

## 論文の内容の要旨

論文提出者氏名	大久保洋輔
論文審査担当者	主査 樋口京一 副査 山田充彦 ・ 田淵克彦
論文題目	Loss of $\mu$ -crystallin causes PPAR $\gamma$ activation and obesity in high-fat diet-fed mice. ( $\mu$ -crystallin(CRYM)の欠損が高脂肪食負荷マウスで PPAR $\gamma$ の活性化と肥満を誘発する。)
(論文の内容の要旨)	<p>[背景と目的]</p> <p>肥満はエネルギー貯蓄と消費のバランスの崩れがその発症要因となる。甲状腺ホルモンは脂肪の産生と消費を調節することによりエネルギー貯蓄-消費のバランスを司っている。<math>\mu</math>-crystallin (CRYM) は細胞内で甲状腺ホルモン(T3)と結合することで細胞内の T3 の働きを調節する蛋白である。CRYM が 2 型糖尿病合併肥満患者の白色脂肪内で減少している、CRYM が骨格筋の働きを調整している、といった近年の報告を踏まえ、我々は CRYM がエネルギー代謝に関与しているとの仮説を立てた。CRYM の全身欠損(KO)マウスを用いて CRYM が高脂肪食負荷下でエネルギー代謝へどのような影響を与えるか解明することを目的とした。</p> <p>[方法]</p> <p>8 週齢の野生型マウスと CRYM KO マウスに対して、10 週間の 60%高脂肪食を与えた。体重および空腹時血糖値を 2 週間ごとに測定し、並行して摂餌量も測定した。負荷 10 週目に内臓脂肪、耐糖能、肝臓を評価した。内臓脂肪を重量測定と組織切片による脂肪細胞のサイズで評価した。耐糖能をグルコース腹腔内投与試験、インスリン腹腔内投与試験、islet 単離刺激試験で評価した。肝臓を重量測定及び組織切片での脂肪滴サイズの比較、real time PCR を用いた炎症、脂肪合成、PPAR の遺伝子発現量の違いで評価した。統計学的処理は、PASW statistics (v18.0)を用いて、2 群間の差を Mann-Whitney U test で確認し、P 値 0.05 未満を有意差ありとした。</p> <p>[結果]</p> <p>野生型マウスに比べ CRYM KO マウスは、負荷後 8 週から体重、内臓脂肪が有意に上昇し、摂餌量も一貫して多い傾向を認めた。脂肪については内臓脂肪(精巣周囲、後腹膜)の重量、および精巣周囲内臓脂肪の組織切片による脂肪細胞面積の有意な増大を認めた。空腹時の血糖に差はなかったが、ブドウ糖負荷により耐糖能の低下を認めた。インスリン投与によるインスリンに対する反応、膵臓からラ氏島を分離してブドウ糖刺激に対するインスリン分泌を確認したが、有意な差は認められなかった。肝臓は重量に差はなく、CRYM KO マウスで組織切片での脂肪滴が有意な増加を認めた。肝臓の遺伝子発現量解析で、CRYM KO マウスでは炎症に関連する <i>Tnf-<math>\alpha</math></i>、核内転写因子の <i>Ppar <math>\gamma</math></i> と脂肪産生に関連する <i>Accl</i> の有意な上昇を認めた。</p> <p>[考察]</p> <p>甲状腺ホルモンの細胞内結合蛋白である CRYM を欠損させたマウスにおいて、高脂肪食の負荷は肥満を引き起こし、脂肪の増加及び脂肪細胞の肥大化、耐糖能の低下、脂肪細胞及び肝臓での炎症系遺伝子の活性化を認めた。さらには肝臓で <i>Ppar <math>\gamma</math></i> と <i>Accl</i> 遺伝子の有意な増加を認め、脂質産生と脂肪の蓄積に CRYM が抑制的に働いている可能性を示した。</p> <p>白色脂肪について、T3 はノルエピネフリンの末梢での産生を刺激することで、脂肪分解増加や白色脂肪減少をおこす。既報で LXR(Liver X receptor) <math>\beta</math> が皮下脂肪の甲状腺ホルモン発現量を調整し、白色脂肪量を調整することが報告されており、CRYM</p>

は LXR  $\beta$  などの因子と影響しあう可能性も考えられる。

高脂肪食負荷下で CRYM KO マウスでは *Ppar  $\gamma$*  の著明な増加が起こる。*Ppar  $\gamma$*  は脂肪合成に関与する遺伝子を活性化し、*Ppar  $\gamma$*  の発現増加が脂肪肝を引き起こすことが知られている。また肝細胞及びマクロファージ特異的な *Ppar  $\gamma$*  欠損マウスでは脂肪肝が起こらないことが報告されている。今回我々は CRYM と *Ppar  $\gamma$*  の直接的な関連を示すことはできなかったが、高脂肪食負荷下では CRYM が *Ppar  $\gamma$*  発現を抑制して肝臓への脂肪蓄積を減弱している可能性がある。

T3 は *Acc1*、*Fasn*、*Srebp1* といった脂質産生に関連した遺伝子を誘導して脂質合成を促進することがわかっているが、我々のデータから CRYM KO マウスでは *Acc1* 発現が有意に増加し、*Fasn*、*Srebp1* は有意差こそ認められなかったものの増加傾向を示すことがわかった。CRYM が T3 と関係して *Acc1* などの遺伝子発現を抑制し、高脂肪食負荷の状態でも脂肪沈着をさせないように働いている可能性が示唆された。

糖代謝に関しては耐糖能の低下が認められた。肥満によるインスリン抵抗性上昇で耐糖能が低下するのではないかと考えたが、インスリン投与試験ではインスリン抵抗性に有意な差は認めなかった。一方でブドウ糖投与時の血中インスリン濃度およびインスリン分泌試験でもインスリン分泌に有意な差は認めないことから、耐糖能低下の原因は示せなかった。糖代謝への関与のメカニズムは今後の研究の課題である。

上記我々のデータから CRYM は高脂肪食負荷による脂肪肝生成と肥満発症を抑制するのに必須である可能性が示唆された。