

脂質メディエーターの産生制御による 肥満抑制を目指した新規肥満抑制剤の開発

大阪薬科大学薬学部 生体防御学研究室
准教授 藤森 功

はじめに

欧米の先進国のみならず、日本においても食の欧米化や運動時間の減少により、肥満人口は増加の一途をたどっている。肥満は様々な代謝異常疾患（生活習慣病）を引き起こし、さらには高い頻度で循環器系疾患や脳疾患をまねくと考えられている。脂質メディエーターであるプロスタグランジン（prostaglandin: PG）類やそれらの代謝物は、肥満や肥満に起因して発症する代謝異常疾患の制御において重要であることが知られている。我々はこれまでに、PGD₂の合成酵素であるリポカリン型PGD合成酵素（lipocalin-type PGD synthase: L-PGDS）が肥満進展とともに発現上昇し（Fujimori et al., J.Biol.Chem., 2007, 282, 18458; Fujitani et al., FEBS J., 2010, 277, 1410）、脂肪細胞特異的にL-PGDS遺伝子が欠損したコンディショナルノックアウトマウスでは野生型マウスと比べて体重増加（脂肪蓄積）が鈍化することから、PGD₂は肥満の促進因子であることを明らかにしている。また、脂肪細胞において、PGD₂はPGD₂受容体の一つであるCRTH2（DP2）受容体に結合し、またPGD₂の代謝物である Δ^{12} -PGJ₂は核内受容体であるPPAR γ に結合する。つまり、PGD₂は複数の経路を介して脂肪細胞の分化を活性化する（Fujimori et al., Gene, 2010, 505, 46）。これらの結果は、PGD₂の受容体やPPAR γ だけを標的とした阻害剤では抗肥満効果は不十分であり、その上流であるPGD合成酵素を阻害することこそが、抗肥満薬の開発のためには必要であることを示唆している。

本研究では、L-PGDSを標的とした抗肥満薬の開発を目的として、経口投与可能なL-PGDSの阻害剤の抗肥満効果を、マウスを用いて検討した。

結 果

野生型マウス（C57BL/6 ; 6週齢、雄）を高脂肪食摂餌させるとともに、L-PGDSの阻害剤であるAT-56（図1A）を連日経口投与（20mg/kg）した。1週間ごとに体重測定を行い、2ヵ月後に血液を採取し、各種血液生化学値、組織から抽出したRNAを用いて各種遺伝子発現レベルを測定した。また、脂肪量はCT（Computed Tomography）により測定した。

高脂肪食を摂餌し、AT-56を連日投与することにより、2ヵ月後にはAT-56非投与群と比べて約16%の体重減少が認められた（図1B-D）。血液生化学データについては、AT-56投与に

よりトリグリセリド（中性脂肪）の値が有意に減少していた（図1E）。一方、血糖値、総コレステロール値、LDLおよびHDLコレステロールの値は、AT-56投与、非投与群において有意な差は認められなかった（図1E）。

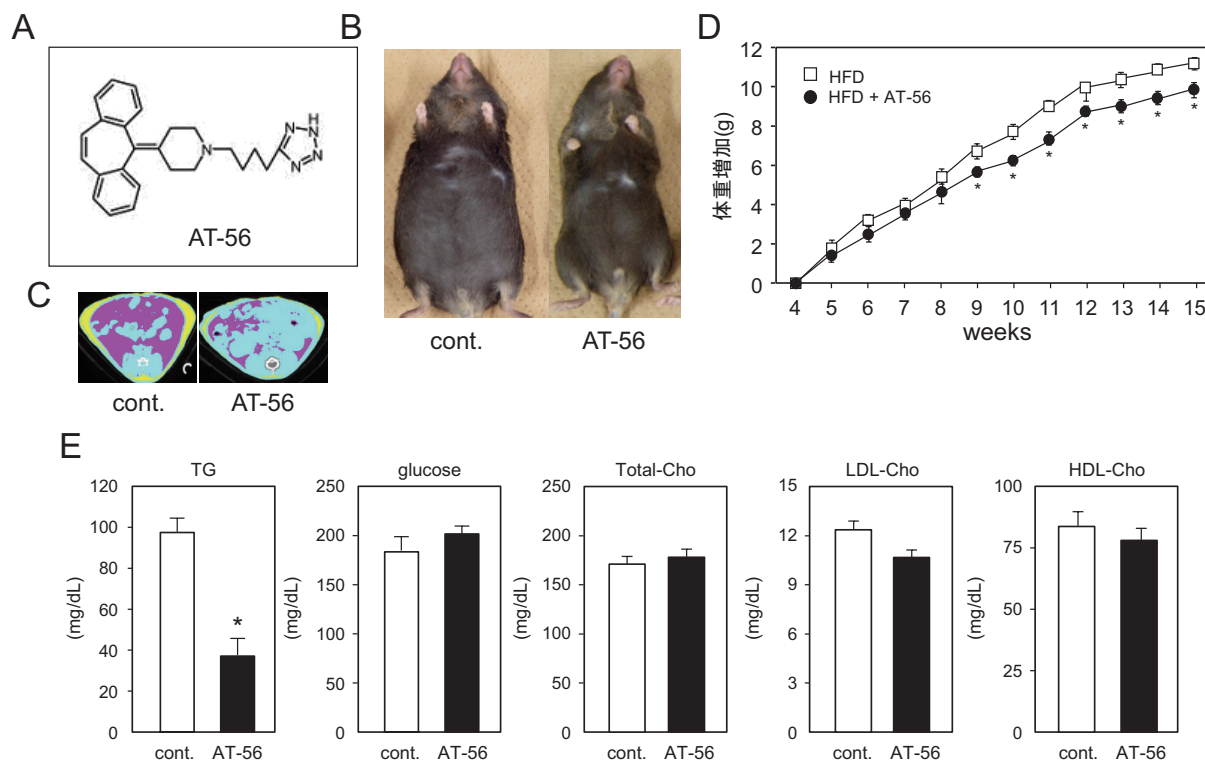


図1. AT-56による肥満抑制効果の検討

A. AT-56の構造. B. 高脂肪食を摂餌したマウス. C. CTによる腹部断層写真（内臓脂肪はピンク色、皮下脂肪は黄色に着色している）. D. 2ヵ月間の体重変化（□:AT-56非投与群、●:AT-56投与群）. E. 各種血液生化学検査. * $p < 0.01$, vs. control

次に、上で述べた方法で飼育したマウスから、2ヵ月後に内臓脂肪を抽出し、脂肪細胞の分化に関連する遺伝子の発現を調べた。

脂肪細胞の分化マーカー遺伝子であるPPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ) とその標的遺伝子であるaP2 (fatty acid binding protein 4) やLPL (lipoprotein lipase) の発現レベルは、AT-56投与マウスの内臓脂肪組織で、野生型マウスと比べて有意に低下していた。また、脂肪酸合成系の遺伝子であるFAS (fatty acid synthase) とSCD (stearoyl-CoA desaturase) の発現もAT-56投与マウスの内臓脂肪組織において低下していた。しかしながら、血液生化学検査において、肝臓の逸脱酵素であるALT (alanine aminotransferase) の値はAT-56投与群が上昇しており、肝障害の発生が考えられた（図3A）。そこで、肝臓を取り出し、切片を作製して、肝細胞内の脂肪滴をOil Red Oにより染色したところ、AT-56投与群では脂肪肝になっていることが分かった（図3B）。

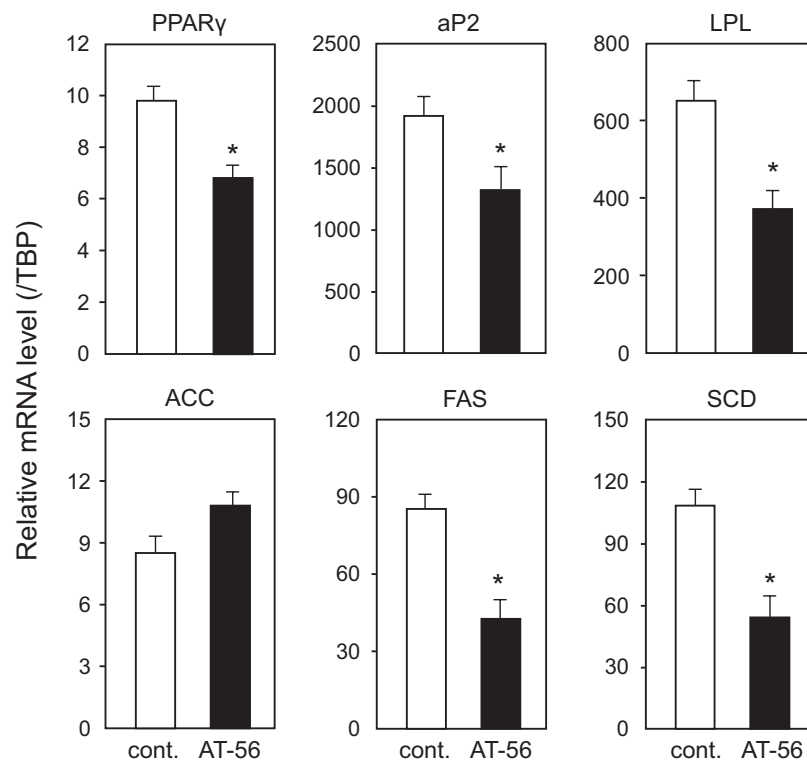


図2. AT-56 投与したマウスの脂肪組織における脂肪細胞分化マーカー遺伝子の発現

*p<0.01, vs. control

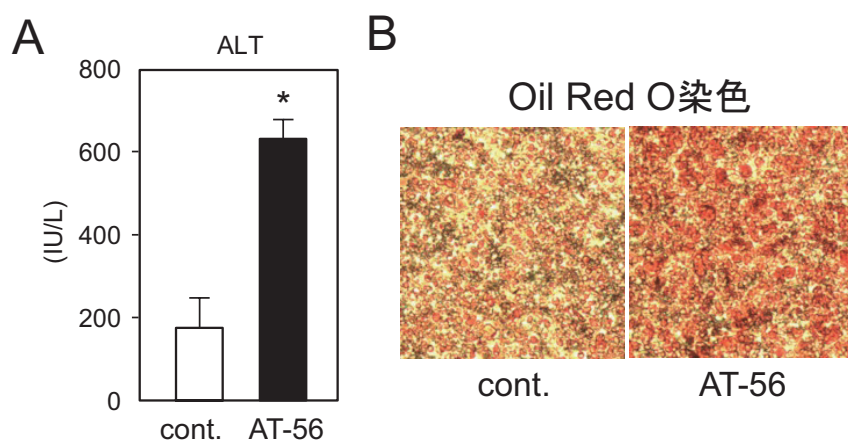


図3. AT-56 投与マウスの肝臓への影響

A. 血中ALT値 B. 肝臓の切片のOil Red O 染色

考 察

L-PGDSは脂肪細胞においてPGD₂を合成し、合成されたPGD₂は、PGD₂としてPGD₂受容体の一つであるCRTH2 (DP2) 受容体に結合する。また、PGD₂は非酵素的に Δ^{12} -PGJ₂に代謝され、核内受容体であるPPAR γ に結合し、脂肪細胞の分化を促進する。また、 Δ^{12} -PGJ₂はPPAR γ に結合して機能を発揮するだけでなく、未知の経路を介して脂肪分解を抑制すること

が分かっている (Fujimori et al., Gene, 2010, 505, 46)。つまり、脂肪細胞において、L-PGDS の酵素活性を阻害して PGD₂ の産生を抑制すると、PPAR γ の機能抑制と脂肪分化の抑制が解除され、脂肪量が減少することが期待できる。

今回、L-PGDS の阻害剤である AT-56 をマウスに投与すると、体内脂肪量が減少し、体重増加が抑制された。しかしながら、同時に肝臓内の脂肪蓄積量が増加し、脂肪肝になり、肝機能マーカーである ALT の値が高値となった。今回、用いた高脂肪食は肥満になることを目的とした餌 (含 60% 脂質) であるため、体内摂取された脂質が脂肪細胞に蓄積されずに流出し脂質が肝臓に蓄積された結果、脂肪肝に至ったと考えられる。AT-56 の投与量、投与スケジュールの調節が必要である。また、すでに肥満になった動物に AT-56 を投与し、体重が減少するかを検討を開始している。さらに、効果は合成化合物ほどではないが、低い副作用が期待できる天然物由来成分が L-PGDS の遺伝子発現を抑制することを見出している。今後、この天然由来成分についても解析を行っていく。

要 約

L-PGDS によって合成される PGD₂ は脂肪細胞の分化を促進し、動物においては肥満を促進する。本研究では、経口投与可能な L-PGDS の阻害剤である AT-56 を、高脂肪食摂餌させているマウスに投与して体重増加に与える影響を調べたところ、AT-56 投与により、非投与群と比べて体重増加が鈍化することが分かった。また、AT-56 投与により体内の脂肪量は有意に減少しており、各種脂肪細胞分化マーカー遺伝子の発現も低下していた。これらのことから、L-PGDS の機能調節が肥満制御につながることが示唆された。しかしながら、脂肪細胞に取り込まれなかった、あるいは脂肪分解の亢進により、血中の遊離脂肪酸レベルが上昇し、肝臓は脂肪肝を呈していた。一方、AT-56 に代わる天然物成分による L-PGDS の阻害による PGD₂ 産生の低下について検討し、化合物を探索し、候補化合物を得た。今後、L-PGDS の機能を阻害する天然物の抗肥満効果を検討し、合成化合物ではなく、より緩やかだが、副作用の少ない抗肥満効果を有する天然物についても検討を行っていく。

謝 辞

本研究の実施にあたり、調査研究助成を頂きました公益財団法人 大和証券ヘルス財団に心より御礼申し上げます。

文 献

1. Fujimori, K. and Shibano, M. (2013) Avicularin, a plant flavonoid, suppresses lipid accumulation through repression of C/EBP α -activated GLUT4-mediated glucose uptake in 3T3-L1 cells. J. Agric. Food Chem.

61: 5139-5147.

2. Fujimori, K. (2012) Prostaglandins as PPAR γ modulators in adipogenesis (Review) . PPAR Res. 527607.
3. Fujimori, K., Maruyama, T., Kamauchi, S., and Urade, Y. (2012) Activation of adipogenesis by lipocalin-type prostaglandin D synthase-generated Δ 12-PGJ2 acting through PPAR γ -dependent and independent pathways. Gene 505: 46-52.
4. Fukuhara, A., Yamada, M., Fujimori, K., Miyamoto, Y., Kusumoto, T., Nakajima, H., and Inui, T. (2012) Lipocalin-type prostaglandin D synthase protects against oxidative stress-induced neuronal cell death. Biochem. J. 443: 75-84.
5. Fujimori, K., Fukuhara, A., Inui, T., and Allhorn, M. (2012) Prevention of paraquat-induced apoptosis in human neuronal SH-SY5Y cells by lipocalin-type prostaglandin D synthase. J. Neurochem. 120: 279-291.
6. Fujitani, Y., Aritake, K., Kanaoka, Y., Goto, T., Takahashi, N., *Fujimori, K., and Kawada, T. (2010) Pronounced adipogenesis and increased insulin sensitivity by overproduction of prostaglandin D2 in vivo. FEBS J. 277: 1410–1419.
7. Fujimori, K., Aritake K, and Urade, Y. (2007) A novel pathway to enhance adipocyte differentiation of 3T3-L1 cells by up-regulation of lipocalin-type prostaglandin D synthase mediated by liver X receptor-activated sterol regulatory element binding protein-1c. J. Biol. Chem. 282: 18458-18466.