

トピックス

## アクアポリン・アディポースの 生体内における機能解析

火伏 俊之, 前田 法一, 船橋 徹, 下村伊一郎

大阪大学大学院医学系研究科内分泌・代謝内科学

### はじめに

脂肪細胞は、飢餓時に備え中性脂肪を蓄える臓器である。運動時や絶食時には中性脂肪は加水分解され、遊離脂肪酸(FFA; free fatty acid)とグリセロールが循環血中へ放出される。以前より脂肪細胞には効率良いグリセロール放出機構の存在が想定されていたが、分子機構は明らかにはされていなかった。1997年、私たちのグループと大阪大学細胞工学センターとの共同研究で、ヒト脂肪組織cDNA libraryより水チャネルファミリーに属するaquaporin adipose(AQPap)を同定した<sup>1)</sup>。その後、AQPapは水のみならずグリセロール透過能をも有すること<sup>1, 2)</sup>、3T3-L1脂肪細胞の分化過程に伴いAQPap遺伝子発現が増加していくこと<sup>2)</sup>、インスリンにより転写レベルで厳密に制御されていること<sup>3)</sup>などを報告してきた。これらの結果は、AQPapが脂肪細胞において、グリセロール放出に関わる分子であることを強く示唆していた。

最近私たちは実際にAQPapが生体内で脂肪細胞特異的グリセロールチャネルとして作用しているか、またAQPapの破綻はどのような病態に繋がるのか、などを解析する目的でAQPap欠

損マウスの作製・解析を行った<sup>4, 5)</sup>。本稿では、AQPap欠損(KO)マウスから得られた知見を報告する。

### 1. 脂肪細胞特異的グリセロールチャネル, AQPap

まず、AQPapが生体内において脂肪細胞特異的グリセロールチャネルとして機能しているかどうか、7~10週齢のマウスを用いて解析を行った。脂肪分解により生じる遊離脂肪酸(FFA)、グリセロールの血中濃度を摂食、絶食時に測定した。血中FFAは野生型(WT), KOマウスに差は見られなかったが、血中グリセロールは摂食、絶食時ともKOマウスで有意に低値を示した(図1-A)。また、これらマウスに脂肪分解を強力に誘導する $\beta_3$ -アドレナリン作動薬(BRL26830A)を投与すると、血中FFA上昇は両群間で同程度観察されたが、血中グリセロールの上昇はKOマウスで有意に障害されていた(図1-B)。同様の結果が3T3-L1脂肪細胞でも観察された。すなわち、RNAiによりAQPapをノックダウンした細胞では、アドレナリンによるグリセロール放出が障害されていた。

これらの結果、AQPapは生体内において脂肪細胞グリセロールチャネルとして機能しており、グリセロールの

放出に関わっていると考えられた。さらに、長期絶食にて、KOマウスはWTマウスに比して血中グリセロールの上昇が障害され、重篤な低血糖を呈した(図1-C)。脂肪細胞由来のグリセロールは肝臓における糖新生の基質の1つであり、絶食時の血糖を規定する重要な因子と考えられた<sup>4)</sup>。

### 2. AQPap欠損による病態

次に、これらマウスの経時的な体重を観察した。12週齢以降、KOマウスはWTマウスに比して有意に体重増加を来すことがわかった(図2-A, B)<sup>5)</sup>。KOマウスの脂肪組織は、形態学的に肥大化した脂肪細胞が見られ(図2-C)、ヒストグラムではより肥大化した脂肪細胞が多数見られた(図2-D)。精巣周囲脂肪、腎周囲脂肪、皮下脂肪と、各脂肪組織の重量はKOマウスが有意に高重量を示した(図2-E)。さらに、肥満を呈したKOマウスは全身性のインスリン抵抗性を来した。体重差のない8週齢から高脂肪・高蔗糖食を負荷すると、負荷後2週目よりKOマウスは有意に体重が増加し、より重篤なインスリン抵抗性を呈した。

### 3. AQPap欠損マウスの肥満発症機序

私たちは、KOマウスが肥満を呈する原因を調べるために体重差のない若週齢マウスの解析をさらに進めた。体重あたりの摂餌量、直腸温や酸素消費量は両マウス間で差がなかった。また、白色脂肪および褐色脂肪組織における脂肪分化、脂肪合成・分解や熱産生に関わる分子の遺伝子発現にも明らかな違いは見出せなかった。しかし、KOマウスの脂肪細胞内グリセロール含量がWTマウスと比較して有意に増加していた(図3-A)。最近、グリセロール

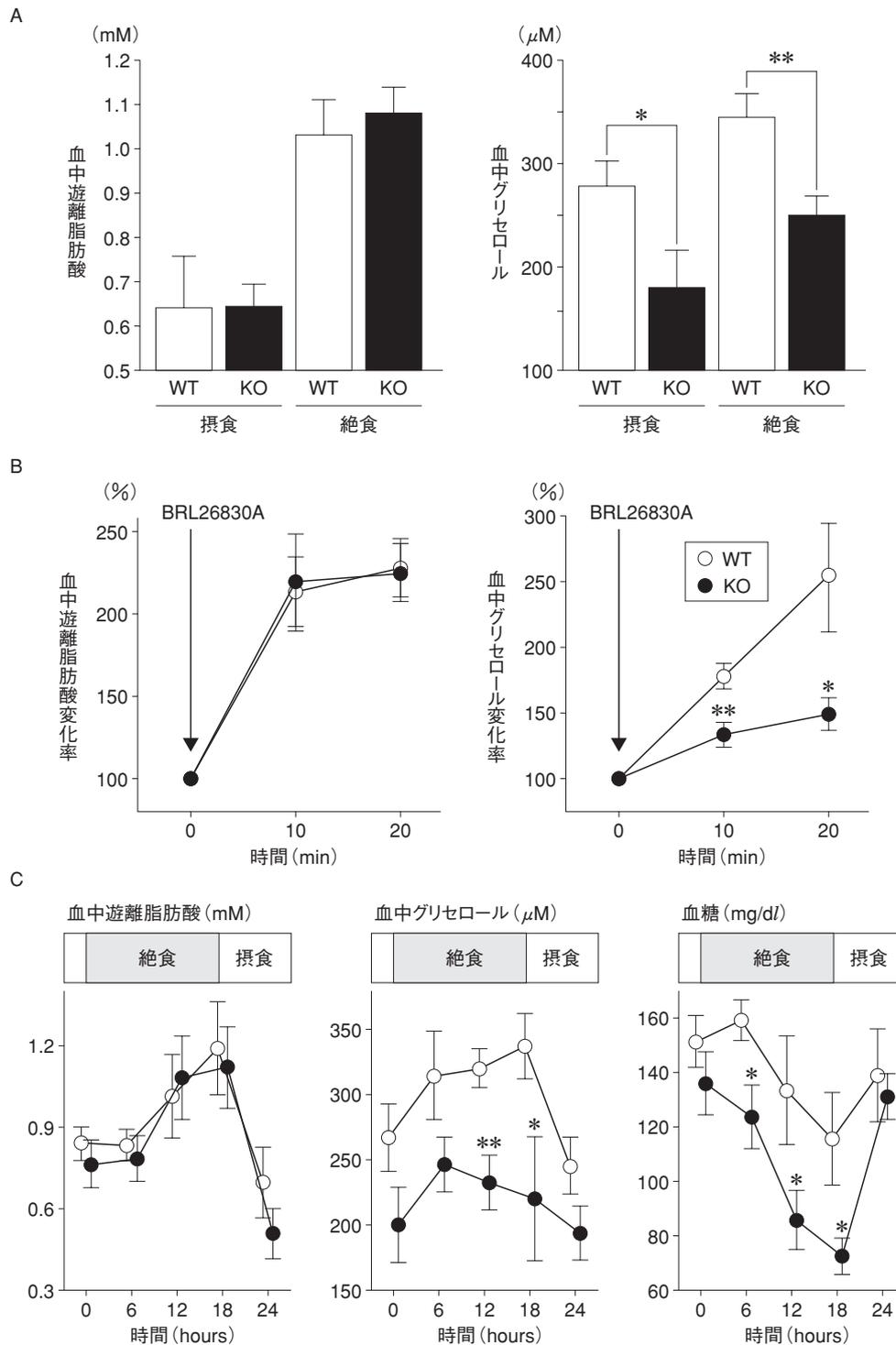


図1 脂肪細胞特異的グリセロールチャネル; AQPap

A: 摂食時, 12時間絶食時における血中FFA, グリセロール濃度, B:  $\beta_3$ アドレナリン作動薬による脂肪分解誘発試験, C: 長期絶食試験  
\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$

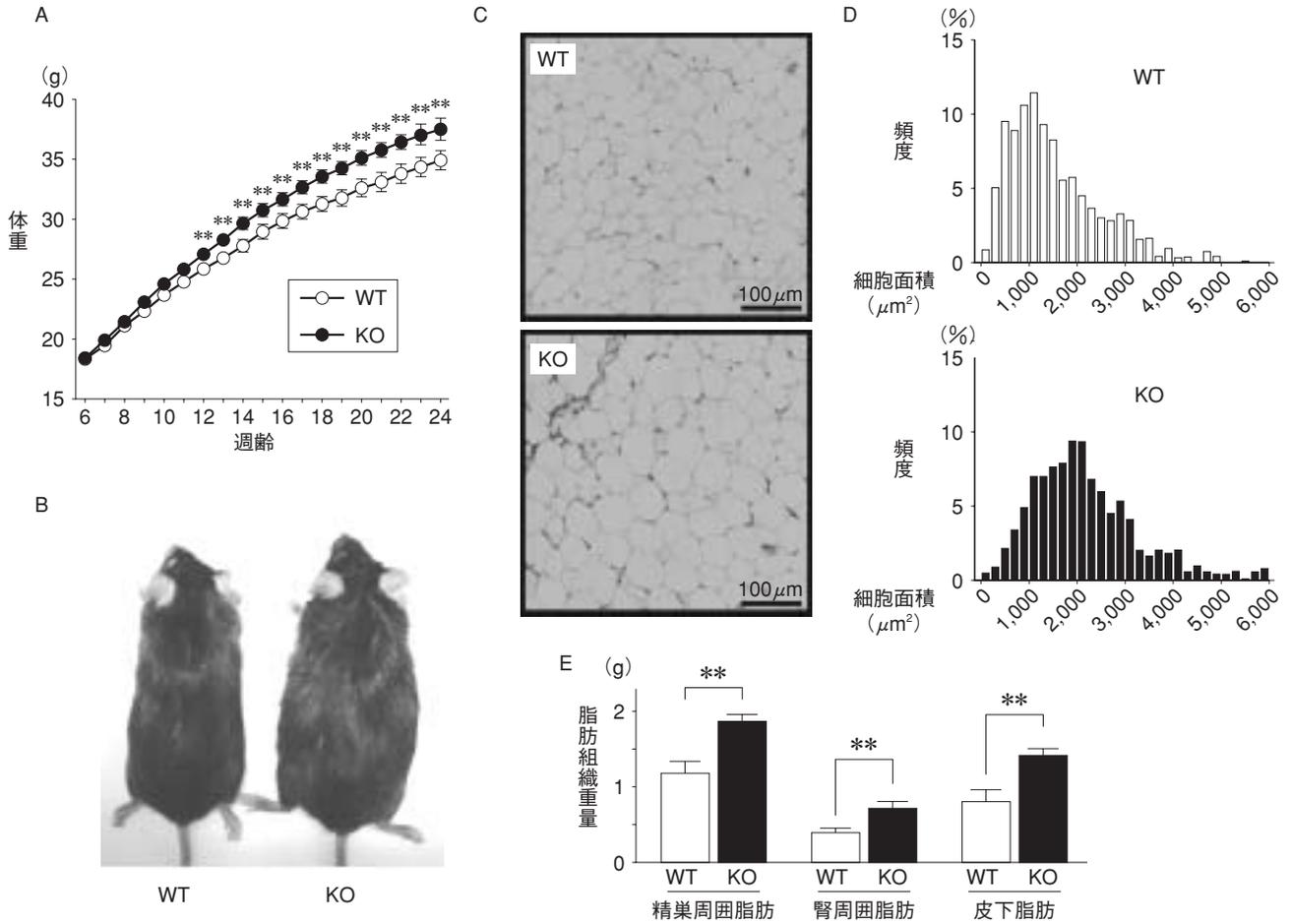


図2 AQPap欠損マウスは肥満を来す

A: 成長曲線, B: 20週齢時の外観, C: 20週齢時の脂肪組織像(H&E染色), D: 脂肪細胞面積のヒストグラム, E: 各脂肪組織重量  
\*\* $p < 0.01$

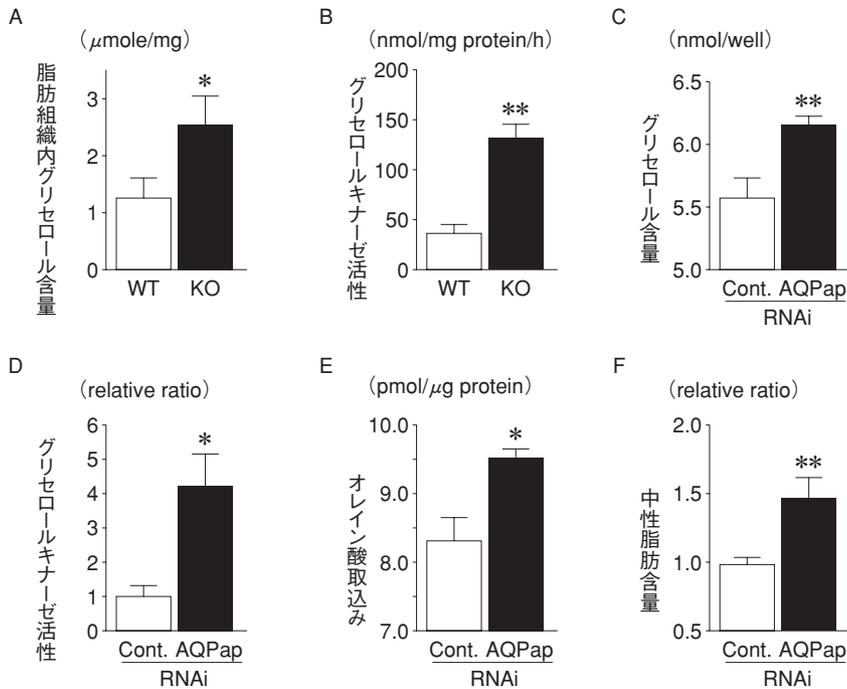


図3 AQPap欠損マウスの肥満発症機序の解析  
A, B: *in vivo*における解析 C, D, E, F, *in vitro* 3T3-L1における解析  
\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$

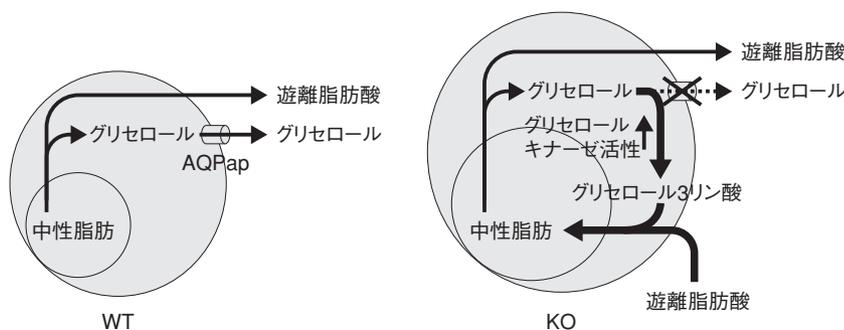


図4 AQPap欠損脂肪細胞肥大のシエーマ

キナーゼ (Gyk) は基質であるグリセロールそのものにより立体構造が変化し、基質誘導性の酵素活性が上昇しグリセロールをグリセロール3リン酸へ変換することが報告された<sup>6)</sup>。そこで、肥満を呈する前のKOマウス白色脂肪Gyk活性を測定したところ、WTマウスに比して明らかに上昇していた(図3-B)。また、脂肪細胞にGykを過剰発現すると、グリセロールの再エステル化が亢進し中性脂肪含量が増加することも示されている<sup>7)</sup>。実際、3T3-L1脂肪細胞にRNAiを用いてAQPapをノックダウンすると細胞内グリセロール含量が増加(図3-C)、Gyk活性が上昇し(図3-D)、オレイン酸取り込みが増加し(図3-E)、最終的には中性脂肪含量がコントロール-RNAi群に比して有意に増加した(図3-F)<sup>5)</sup>。

以上、AQPap欠損マウスの解析により、1) AQPapは脂肪細胞特異的の

グリセロールチャネルとして実際に生体内において機能していること、2) AQPap欠損により脂肪細胞肥大、肥満が生じること、が明らかになった。KOマウスの肥満発症機序のシエーマを図4に示す。

#### おわりに

脂肪細胞を中心としたグリセロール代謝研究はAQPapの発見により飛躍的に向上している。最近、肥満症例では脂肪組織AQPapの発現が低下しているという報告がなされており<sup>8)</sup>、新たな肥満発症の原因の1つとして注目される。

#### 文献

- 1) Kuriyama H, Kawamoto S, Ishida N, et al.: Molecular cloning and expression of a novel human aquaporin from adipose tissue with glycerol permeability. *Biochem Biophys Res Commun* 1997, **241**: 53-58.
- 2) Kishida K, Kuriyama H, Funahashi T, et al.: Aquaporin adipose, a putative glycerol channel in adipocytes. *J Biol Chem* 2000, **275**: 20896-20902.
- 3) Kishida K, Shimomura I, Kondo H, et al.: Genomic structure and insulin-mediated repression of the aquaporin adipose (AQPap), adipose-specific glycerol channel. *J Biol Chem* 2001, **276**: 36251-36260.
- 4) Maeda N, Funahashi T, Hibuse T, et al.: Adaptation to fasting by glycerol transport through aquaporin 7 in adipose tissue. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004, **101**: 17801-17806.
- 5) Hibuse T, Maeda N, Funahashi T, et al.: Aquaporin 7 deficiency is associated with development of obesity through activation of adipose glycerol kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005, **102**: 10993-10998.
- 6) Yeh JI, Charrier V, Paulo J, et al.: Structures of enterococcal glycerol kinase in the absence and presence of glycerol: correlation of conformation to substrate binding and a mechanism of activation by phosphorylation. *Biochemistry* 2004, **43**: 362-373.
- 7) Guan HP, Li Y, Jensen MV, et al.: A futile metabolic cycle activated in adipocytes by antidiabetic agents. *Nat Med* 2002, **8**: 1122-1128.
- 8) Marrades MP, Milagro FI, Martinez JA, et al.: Differential expression of aquaporin 7 in adipose tissue of lean and obese high fat consumers. *Biochem Biophys Res Commun* 2006, **339**: 785-789.