

トピックス

脂肪細胞分化におけるプロスタグランジンD₂代謝物の役割 トランスジェニックマウスを用いた解析

大阪バイオサイエンス研究所 分子行動生物学部門

藤谷靖志

はじめに

脂肪細胞の分化において、核内受容体ファミリーに属するperoxisome proliferator-activated receptor (PPAR) が重要な働きをすることは、*in vitro*の実験結果^{1,2)}、さらにはPPAR ホモヘテロ欠損マウスの実験結果³⁻⁵⁾から明らかとなっている。PPAR はリガンド依存的に活性化されるが、そのリガンドとしては糖尿病の治療薬であるチアゾリジン誘導体が知られている。また内因性のリガンドとしては食餌性

脂肪酸に加え、プロスタグランジン (PG) D₂の代謝物である15-deoxy-^{12,14}PGJ₂ (15d-PGJ₂)が挙げられている。15d-PGJ₂は培養細胞を用いた実験系において、PPAR を活性化し脂肪細胞への分化成熟を誘導することが知られているが^{6,7)}、15d-PGJ₂が*in vivo*においても脂肪細胞分化、ならびに肥満に関与するか否かについてはこれまで報告がなされていない。

PGD₂はPGH₂よりPGD合成酵素 (PGDS)の作用により生成されるが、PGD₂はさらに非酵素的な脱水反応を

受け、15d-PGJ₂が産生されると現在考えられている。われわれはPGD₂とその代謝物15d-PGJ₂の脂肪細胞分化における役割を*in vivo*において検討するため、それらの産生を司る酵素PGDSを大量発現するトランスジェニックマウス (TGマウス) を作製し解析を行ったので、その結果を簡単に紹介したい。

プロスタグランジンD合成酵素トランスジェニックマウスの作製と解析

ヒトPGDSのcDNA⁸⁾をCMVエンハンサー、 β -actinプロモーター下流に挿入し、独立3系統のTGマウスを確立した。TGマウスの白色脂肪組織におけるヒトPGDSの発現はノーザン解析、酵素活性測定および免疫染色法により確認した。

次に野生型マウス (WTマウス) およびTGマウスを高脂肪食で離乳後6週間飼育し、体重、脂肪組織重量の測定を行った。図1-aには、3系統の

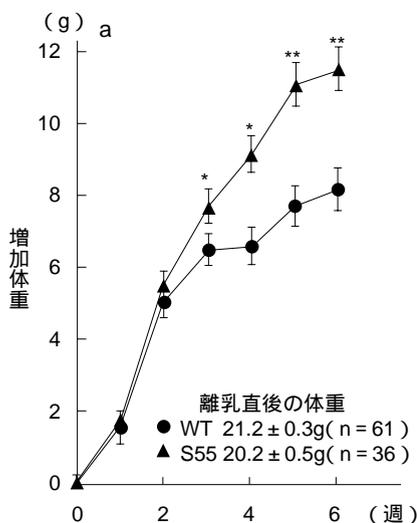
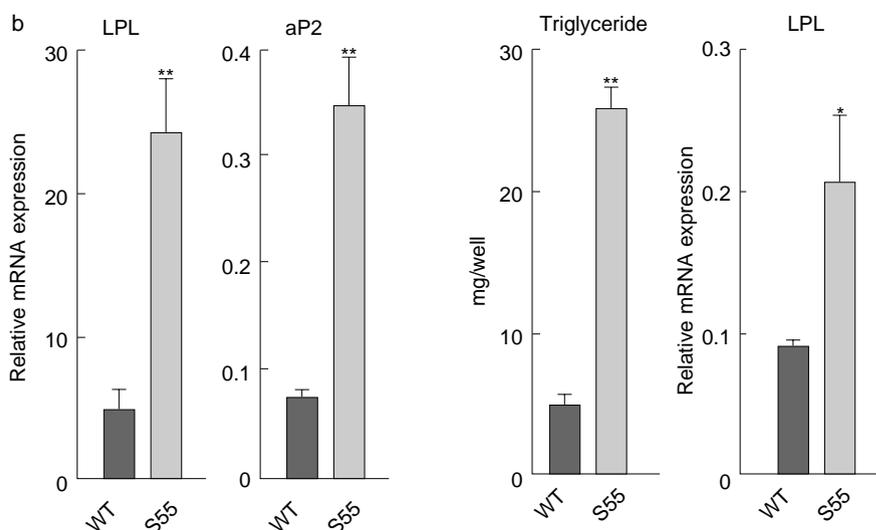


図1 高脂肪食負荷による体重増加と白色脂肪組織での遺伝子発現

a: WT, S55マウスの高脂肪食負荷による体重増加。縦軸は増加体重、横軸は離乳後の日数を示す。
*p < 0.05, **p < 0.01.



b: 白色脂肪組織におけるLPL, aP2 mRNA発現量をリアルタイムPCR法により定量化し、 β -actinで標準化を行った。
**p < 0.01.

図2 初代培養脂肪細胞におけるPGDS大量発現の効果

WT, S55マウスの白色脂肪組織より脂肪細胞を単離し、IBMX/DEX/INS存在下で7日間培養を行った。細胞内の中性脂肪含量およびLPL mRNA発現量を測定した。
*p < 0.05, **p < 0.01.

TGマウスのなかで、ヒトPGDS遺伝子発現レベルが最も高かったS55マウスの離乳後の体重増加を示している。離乳直後ではWTとS55マウスの間で有意な体重差はみられなかったが、高脂肪食負荷3週目以降、S55マウスはWTマウスに比べ有意な体重増加の亢進を示した。このときS55マウスの白色脂肪組織(副精巣周辺白色脂肪および腎周辺白色脂肪)重量はWTマウスのそれに比べ、20~30%増加していた。さらに白色脂肪組織中のPGD₂、15d-PGJ₂量をEnzyme Immuno Assay法により測定したところ、S55マウスではそれぞれ7倍、4倍とWTマウスに比べ有意に増加していることが観察された。またS55マウスの白色脂肪組織においては、PPAR 活性化にともない遺伝子発現が亢進することが知られている、fatty acid binding protein(aP2)、lipo-protein lipase(LPL)のmRNA発現レベルがWTマウスに比べ、約3~5倍上昇していた(図1-b)。

次にWTならびにS55マウスの白色脂肪組織より単離、初代培養を行った脂肪細胞を用い、PGDS大量発現の効果について検討した。脂肪細胞をIBMX/DEX/INS存在下で培養をしたところ、S55マウス由来の脂肪細胞では中性脂肪の蓄積の顕著な増加と、LPL mRNA発現量の増加が観察され

た(図2)。このことから、S55マウス由来の脂肪細胞の成熟脂肪細胞への分化が亢進していることが確認された。

おわりに

以上の結果より、PGDSを大量発現させることにより白色脂肪組織中のPGD₂と15d-PGJ₂が増加し、脂肪細胞の分化が亢進していることが明らかとなった。このことはPGD₂およびその代謝物である15d-PGJ₂が*in vivo*においても脂肪細胞分化、肥満に関与している可能性を示している。しかしながら今回の結果はTGマウスで得られたものであり(病態)生理的条件下におけるPGD₂とその代謝物の脂肪細胞分化、肥満における役割は未だ不明である。これについては今後の研究が待たれるところである。またPGDSを大量発現する本TGマウスは、新規の肥満モデルマウスとしても有用であると考えられる。

文 献

- 1) Tontonoz P, Hu E, Spiegelman BM : Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR 2, a lipid-activated transcription factor. Cell 1994, 79 : 1147-1156.
- 2) Brun RP, Tontonoz P, Forman BM, et al. : Differential activation of adipogenesis by multiple PPAR isoforms. Genes Dev 1996, 10 : 974

984.

- 3) Kubota N, Terauchi Y, Miki H, et al. : PPAR mediates high-fat diet-induced adipocyte hypertrophy and insulin resistance. Mol Cell 1999, 4 : 597-609.
- 4) Rosen ED, Sarraf P, Troy AE, et al. : PPAR is required for the differentiation of adipose tissue *in vivo* and *in vitro*. Mol Cell 1999, 4 : 611-617.
- 5) Barak Y, Nelson MC, Ong ES et al. : PPAR is required for placental, cardiac, and adipose tissue development. Mol Cell 1999, 4 : 585-595.
- 6) Forman BM, Tontonoz P, Chen J, et al. : 15-deoxy-12, 14-prostaglandin J2 is a ligand for adipocyte determination factor PPAR. Cell 1995, 83 : 803-812.
- 7) Kliewer, SA, Lenhard JM, Willson TM, et al. : A prostaglandin J₂ metabolite binds peroxisome proliferator-activated receptor and promotes adipocyte differentiation. Cell 1995, 83 : 813-819.
- 8) Kanaoka Y, Fujimori K, Kikuno R, et al. : Structure and chromosomal localization of human and mouse genes for hematopoietic prostaglandin D synthase. Conservation of the ancestral genomic structure of sigma-class glutathione S-transferase. Eur J Biochem 2000, 267 : 3315-3322.