

159. 性ホルモンによる肥満制御機構の解明

上田 和孝

東京大学 医学部付属病院 循環器内科

Key words : エストロゲン, エネルギー代謝, 耐糖能異常

緒言

女性における心筋梗塞などの心血管疾患の発症率は閉経後に急速に上昇することが知られているが、その原因の一つとして、肥満や糖尿病等といった代謝異常の発症頻度が閉経に伴って増加することが挙げられる。こうした代謝異常の発症には、女性ホルモンであるエストロゲンの作用が閉経後に消退することが密接に関わっていると推察される。実際に動物を用いた研究でも、閉経モデルにおいて明らかな体重増加や耐糖能異常が生じ、エストロゲン補充によってこれらの異常が正常化することが知られている。しかしながら、女性ホルモンの補充療法が代謝異常や心血管疾患を抑制するかを検討した試験では、エストロゲンの有効性の一部は示されたものの、補充療法によって乳がんや血栓症が増加するという不利益な事象が認められてしまい、歓迎できる結果ではなかった¹⁾。副作用を最小限にし、効果を最大にするためには、エストロゲンの生体に与える影響についてより正確に把握する必要がある。しかしながら、エストロゲンがエネルギー代謝を制御する詳細なメカニズムについては、エストロゲンシグナルが非常に複雑で多岐にわたることもあり、これまで明らかになっていなかった。今回我々は、複数あるエストロゲンのシグナル伝達経路のうち、エストロゲン受容体 (ER) の核内移行を伴わない “rapid, non-genomic シグナル経路” のみを特異的に阻害した変異 ER を構築し、それを内因性 ER と置換したマウス (KRRKI マウス) を樹立した。注目すべきことに、本マウスは、ER の古典的な “genomic シグナル経路” は保持されているにもかかわらず、体重増加と耐糖能異常を示した。本研究では、ER rapid, non-genomic シグナル経路がエネルギー代謝を制御する、より詳細なメカニズムについてさらに深く検討した。

方法および結果

我々はこれまでに、rapid ER α シグナル活性化は、細胞膜に存在する scaffold 蛋白である striatin に ER が結合することにより生じることを示した²⁾。我々はさらに、培養血管内皮細胞を用いた検討で、ER α の中でも 231 リシン (K)、234 アルギニン (R)、234R のアミノ酸残基を全てアラニン (A) に置換した mutation ER α においては、ER α と striatin の結合が阻害され、rapid シグナルが抑制されることを見出した³⁾。こうした研究をさらに発展させ、*in vivo* で rapid シグナルの役割を検討するために、正常な ER α を全て mutation ER α に置換した新規の遺伝子改変マウス (KRR-KI マウス) を作製した。

本マウスの成長過程を観察すると、顕著な体重増加と耐糖能異常が認められた。CT スキャンによる検討で、本マウスにおける体重増加は、主に皮下脂肪や内臓脂肪といった、白色脂肪組織の増大に伴うものであることが明らかになった。エネルギーの体内蓄積はエネルギーの摂取量と消費量のバランスにより規定されるが、KRR-KI マウスは野生型マウスに比べ 1 日当たりの食餌摂取量に差が無いことが確認された。このことは KRR-KI マウスの体重増加は、エネルギー消費量の違いによって生じたものであり、エネルギー摂取量の違いによるものではないことを示唆している。一方消費エネルギーは、活動量と基礎代謝量によって規定されるが、代謝チャンバーを用いて検討を重ねたところ、本マウスにおいてはエネルギー消費と自発的活動性のいずれもが低下していることが明らかとなった (図 1)。

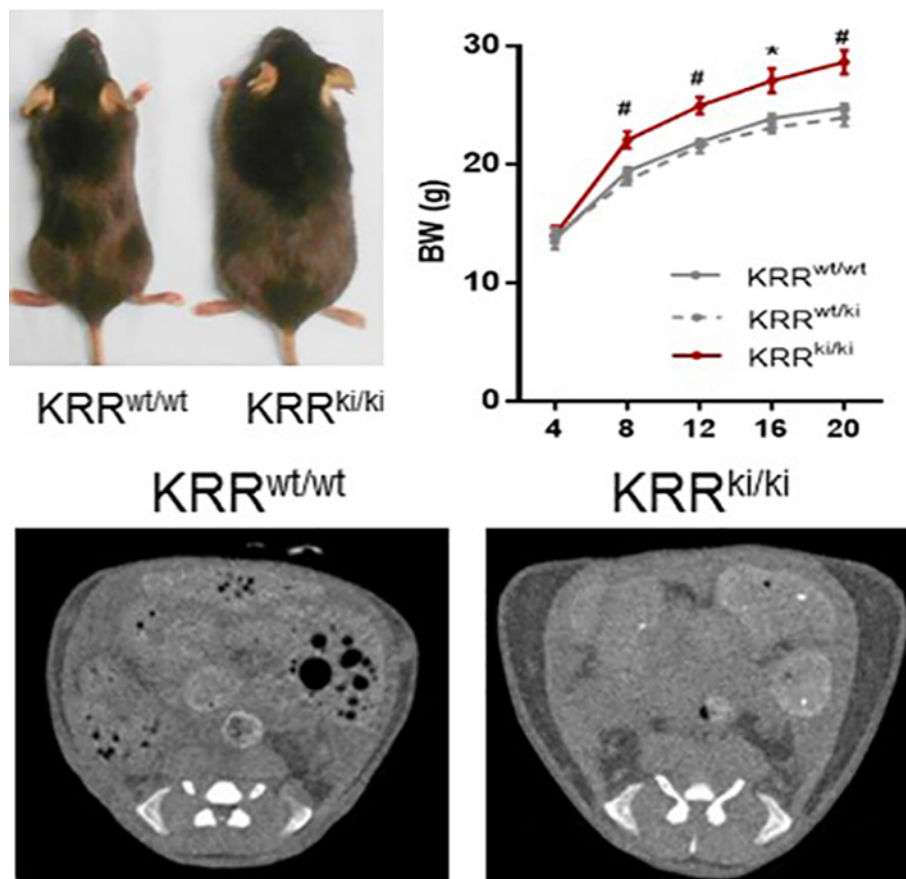


図1. エストロゲン受容体 rapid、non-genomic シグナルの消失は体重増加をきたす
 (写真上) 12 週齢成体雌マウスの外観。
 (グラフ) KRRKI マウスホモ (KRR^{ki/ki}) マウスはヘテロ (KRR^{wt/ki}) やコントロール (KRR^{wt/wt}) に比べ体重増加を示した (* P < 0.05, # P < 0.01 対 KRR^{wt/wt}, Tukey post hoc test)。
 (写真下) CT にて KRRKI マウスでは皮下脂肪、内臓脂肪の増大を認めた。

非運動性のエネルギー消費は熱産生能によって規定される。我々は、本マウスは室温下での体温が低下しており、寒冷環境での熱産生能も大きく低下していることを見出した。本来、白色脂肪組織はエネルギー貯蓄の役割を持ち、褐色脂肪組織はエネルギーを消費し熱産生を生じる役割を持つとされるが、若年時や寒冷刺激時には白色脂肪において褐色脂肪様の性質を持つ成分が出現し、褐色脂肪と同様に熱産生を生じることが分かり、白色脂肪の褐色化 (browning) として知られ、注目されている。興味深いことに、本マウスにおいては内臓白色脂肪における browning の遺伝子マーカーである *UCPI* の発現が顕著に低下していることが分かった(図2)。Browning を促進する主要な経路の一つとして中枢神経系からの交感神経シグナルの興奮が、神経伝達物質であるノルアドレナリンを介して脂肪細胞の $\beta 3$ 受容体を刺激し、脂肪細胞内の CREB のリン酸化を増加させる機序が知られている。KRRKI マウスの白色脂肪組織においては、この CREB のリン酸化が明らかに低下していることが分かった。この結果を受けて、交感神経から白色脂肪組織への褐色化刺激の入力が低下している可能性を考えさらに検討を進めた。

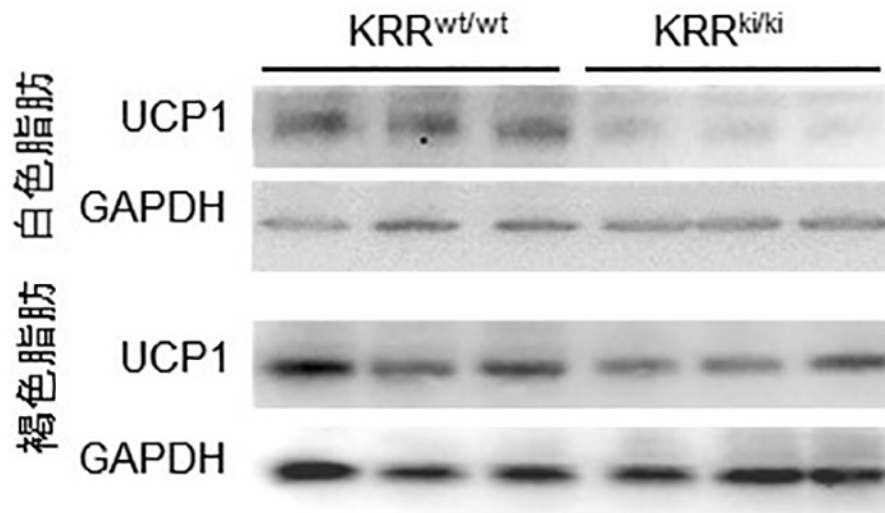


図2. エストロゲン受容体 rapid, non-genomic シグナルの消失は白色脂肪組織における UCP1 発現の減少をもたらす
褐色脂肪マーカーである UCP1 の発現をウエスタンブロット法で検討した。UCP1 の発現は KRRKI マウスの白色脂肪組織において明らかに減少していた。

哺乳類の熱産生能や自発的活動性の制御には脳視床下部が深く関わっていることが知られている。今回我々は、リン酸化キナーゼアレイを用いた網羅的な検討で、本マウスの視床下部組織において複数のキナーゼのリン酸化が増加しており、中でも、エネルギー代謝異常と深く関わる AMPK や Akt といったキナーゼのリン酸化が増加していることを見出した。さらに本マウスにおいては、主要なホスファターゼである PP2A の活性が低下していることが分かった。KRRKI マウスの肥満形成メカニズムにおける視床下部での PP2A 活性化の役割について検討するために、PP2A の活性化剤 (FTY720) を KRRKI マウスに脳室内投与する検討を行った。その結果、FTY720 の脳室内投与によって、視床下部における Akt や AMPK のリン酸化が抑制されるとともに、エネルギー代謝や自発的活動性が改善し、肥満と耐糖能異常が著明に改善した (図 3)。

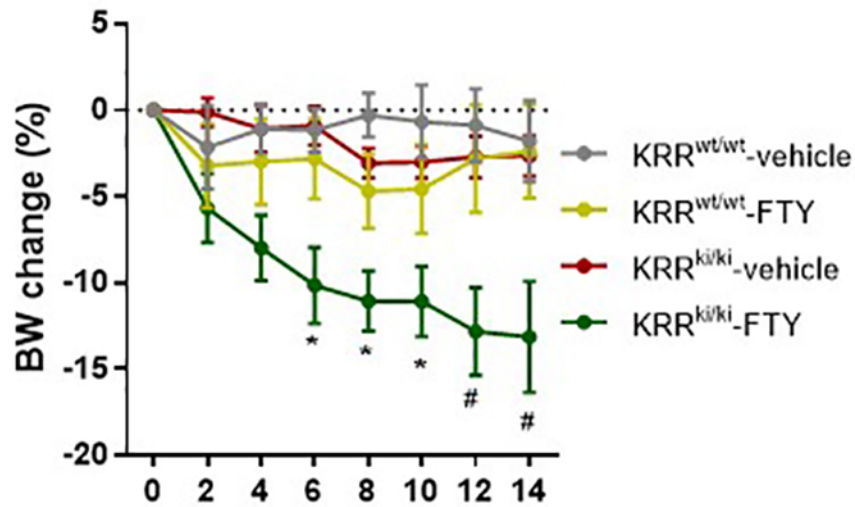


図3. 中枢神経系におけるPP2Aの活性化はKRRKIマウスの代謝異常を改善する
 KRR^{ki/ki}マウスにPP2A活性化薬であるFTY720を脳室内投与すると、体重が減少した
 (* P < 0.05, # P < 0.01 対 KRR^{ki/ki}-vehicle 投与群、Tukey post hoc test)。

最後に、ヒトにおける閉経後の肥満形成に中枢のPP2Aがどのように関わっているのかを検討するために、マウスの卵巣摘出モデルを用いて検討した。雌マウスの卵巣を摘出し、さらに高脂肪食を負荷すると、体重は著しく増加し、耐糖能異常をきたすが、主要なエストロゲンであるエストラジオールを皮下投与すると、体重の増加と耐糖能異常は大きく抑制された。ところが、このエストラジオールを投与したマウスの脳室内に、PP2Aの阻害剤であるオカダ酸(okadaic acid, OA)を投与すると、エストロゲンの体重減少効果のほとんどが消失することが判明した(図4)。このことは、エストロゲンによる抗肥満効果にはPP2Aの活性化が不可欠であることを示している。

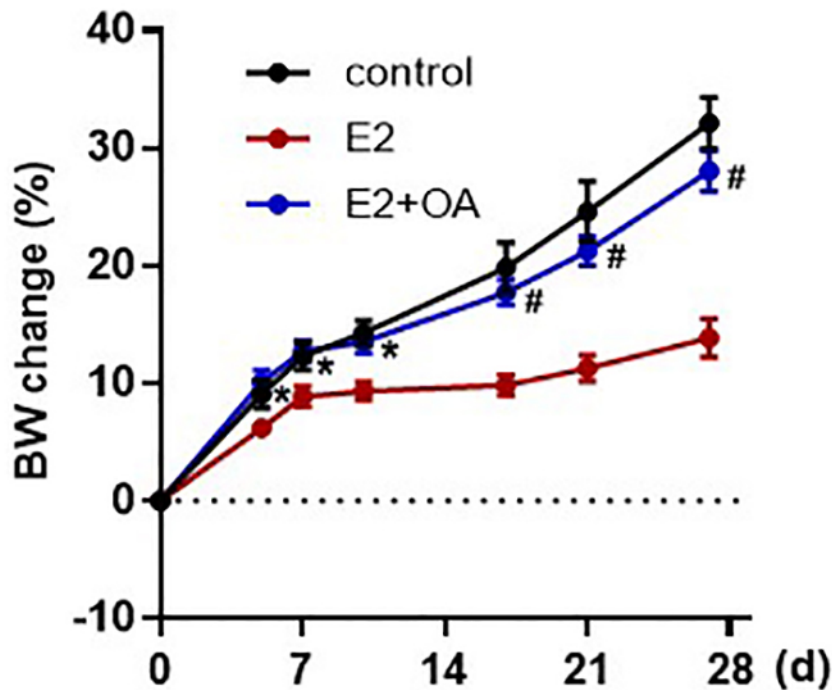


図4. 中枢神経系におけるPP2Aの抑制はエストロゲンによるエネルギー恒常性維持作用を阻害する

マウス卵巣摘出後にエストロゲンを補充すると体重増加が抑制されるが、これにPP2A阻害剤(OA)を併用するとその効果が阻害される(* $P < 0.05$, # $P < 0.01$ 対エストロゲン補充群(E2)、Tukey post hoc test)。

考 察

本研究から、エストロゲンによるエネルギー代謝機構として、視床下部におけるER α のrapid, non-genomicシグナル経路が重要な役割を果たしており、その中でもrapidシグナルによって活性化されるPP2AがAMPKやAktのリン酸化を抑制することでエネルギー代謝を制御している可能性が示された。

肥満と、肥満に引き続き起こる糖尿病等の各種代謝疾患は、虚血性心疾患や脳卒中といった動脈硬化性疾患の発症進展と密接に結びついており、人々の生活の質(QOL)や健康寿命を損う主要な原因の一つとなっているだけでなく、昨今の医療費の急激な増大にも影響している。肥満予防は高齢者の健康長寿の実現に重要であり、安全で効果的な肥満予防・治療法の開発が期待される。しかし、肥満治療は依然として食事制限や運動療法などに限定されており、減量できない人も多い。そのため、肥満に対するこれまでにない新しいアプローチが必要である。エストロゲンと肥満の関係については以前から注目されていたが、閉経後に女性ホルモンの補充療法を行うことで心血管病が減少するか検討した試験では、補充療法群で乳がんや血栓症の増加が認められてしまうという、歓迎できる結果ではなかった。副作用を最小限にし、効果を最大に上げる為には、女性ホルモンの生体に与える影響についてより正確に把握する必要がある。

肥満は虚血性心疾患や脳卒中等の動脈硬化性疾患の発症や進展に密接に結びついており、人間の健康長寿の実現のために、安全で効果的な肥満予防・治療法の開発が期待されている。エストロゲンと肥満の関係については以前から注目されているが、エストロゲンの作用は非常に多岐にわたり、一部は人体に悪影響を及ぼす可能性も懸念されているため、まだ臨床応用は実現されていない。本研究によって明らかになった結果をもとに、閉経後女性における、より効果的でより副作用の少ない肥満改善薬の開発に繋がることを期待できる。

共同研究者

本研究の共同研究者は東京大学循環器内科の瀧本英樹、福馬伸章、劉邦彦、及び Tufts University Molecular Cardiology Research Institute の Richard H. Karas である。

文 献

- 1) Manson JE, Hsia J, Johnson KC, Rossouw JE, Assaf AR, Lasser NL, Trevisan M, Black HR, Heckbert SR, Detrano R, Strickland OL, Wong ND, Crouse JR, Stein E, Cushman M, Women' s Health Initiative Investigators. Estrogen plus progestin and the risk of coronary heart disease. *N Engl J Med.* 2003 Aug 7;349(6):523–34. DOI: 10.1056/NEJMoa030808.
- 2) Lu Q, Pallas DC, Surks HK, Baur WE, Mendelsohn ME, Karas RH. Striatin assembles a membrane signaling complex necessary for rapid, nongenomic activation of endothelial NO synthase by estrogen receptor alpha. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004 Dec 7;101(49):17126–31. DOI: 10.1073/pnas.0407492101.
- 3) Lu Q, Schnitzler GR, Ueda K, Iyer LK, Diomedea OI, Andrade T, Karas RH. ER Alpha Rapid Signaling Is Required for Estrogen Induced Proliferation and Migration of Vascular Endothelial Cells. *PLoS ONE.* 2016;11(4):e0152807. DOI: 10.1371/journal.pone.0152807.