

平成13年度

# 若手研究者奨励研究報告書

# 創薬等ヒューマンサイエンス研究

## 第2分野

創薬のための生体機能解析に関する研究

## エネルギー消費の亢進を目指した肥満予防法の開発

所属 独立行政法人 国立健康・栄養研究所 生活習慣病研究部  
研究者 笠岡（坪山）宜代

### 要旨

肥満は糖尿病等の生活習慣病を引き起こすことが知られており、その原因として内臓組織（筋肉、脂肪組織、肝臓）への脂肪の蓄積増加が推測されている。しかし、どの組織の脂肪蓄積が引き金となって生活習慣病を惹起するのかわかりません。本研究では、脂肪組織と筋肉特異的に熱産生を増加させ脂肪の蓄積量を減少させたトランスジェニックマウスを作成し、生活習慣病の発症機序を検討した。

エネルギー消費／熱産生を高める脱共役蛋白質（UCP2）を脂肪組織特異的に軽度過剰発現させたトランスジェニックマウスを作成したところ、エネルギー消費が亢進し、高脂肪食によって発症する肥満、糖尿病、高脂血症を改善した。以上の結果から、脂肪組織での脂肪蓄積量の減少は肥満／糖尿病／高脂血症を改善することが明らかとなった。脂肪組織で UCP2 を軽度過剰発現させる因子は肥満の予防／治療に有用であることが示唆された。

### 1. 研究目的

肥満は、糖尿病等の生活習慣病を惹起する最大の危険因子である。特に内臓脂肪蓄積型肥満は皮下脂肪蓄積型に比べ生活習慣病と関連が深く、インスリン抵抗性を引き起こし、糖尿病を発症する。しかしながら、内臓肥満は筋肉や肝臓でも脂肪の蓄積を伴うことが多く、どの組織の脂肪蓄積が生活習慣病の発症に関与するのか明らかになっていない。本研究では、UCPs を過剰発現させることにより、これらの組織特異的に内臓脂肪の蓄積量を減少させたモデル動物を作成する。肝臓、筋肉、脂肪等のどの組織で、どの程度、どのように（サイズの減少または細胞数の減少）脂肪の蓄積量を抑制すると糖尿病を防止できるかわかりかにする。作成したモデル動物を用いて高脂肪食負荷や運動負荷を行い、遺伝素因と生活習慣の理想的なあり方を模索する。さらに、UCPs の発現を増加させる新たな食事成分を探し出す。

従って、本研究の最大の意義は、内臓脂肪蓄積型肥満の中で糖尿病を惹起しやすい

タイプを特定できること、さらにヒトに応用が可能な肥満予防法を開発できることである。

## 2. 研究方法

トランスジェニックマウスの作成および解析 UCP2 および UCP3 の cDNA を筋肉特異的なエンハンサー（ミオシンライトチェーンエンハンサー）、脂肪組織特異的なエンハンサー（aP2 エンハンサー）それぞれに組み入れ、SV40 poly A シグナルを 3'末端に付加したコンストラクトを作成する。DNA 断片を受精卵に挿入しトランスジェニックマウスを作成する。コンストラクトのコピー数を確認した後、作成したトランスジェニックマウスで UCPs の mRNA およびタンパク質発現量が増加しているかどうか測定する。UCPs を過剰に発現させたそれぞれの組織で、中性脂肪の蓄積量が減少していることを確認する。また、エネルギー消費量（酸素消費量）、摂食量等の測定、血中成分の分析を行い、UCPs 過剰発現トランスジェニックマウスを解析する。

組織特異的な変化が認められたトランスジェニックマウスとその同腹ノントランスジェニックマウスに高脂肪食（脂肪エネルギー比 60%）または、高炭水化物食（脂肪エネルギー比 10%）を約 3 ヶ月間摂取させる。高脂肪食摂取による体重増加がトランスジェニックマウスで抑制されるかどうか解析する。糖負荷試験およびインスリン負荷試験を行い、耐糖能の改善が認められるかどうかについても解析する。また、エネルギー消費量（酸素消費量）、摂食量、血中成分等の測定も行う。

## 3. 研究成果

### 1) 脂肪組織特異的 UCP2 過剰発現トランスジェニックマウスの作成と解析

脂肪組織特異的なエンハンサー（aP2 エンハンサー）にヒト UCP2 cDNA を組み込んだコンストラクトを作成し、受精卵に挿入しトランスジェニックマウスを作成した（FAT-UCP2）。FAT-UCP2 トランスジェニックマウスは transgene が約 10 コピー挿入されており、ノーザンプロット解析の結果から外来性 UCP2 mRNA の発現が白色脂肪組織および褐色脂肪組織で認められた（1.5-2 倍）。また、外来性 UCP2 蛋白質の発現も褐色脂肪組織および単離脂肪細胞で確認した。さらに、FAT-UCP2 トランスジェニックマウスに高脂肪食を 5 ヶ月間負荷したところ、高脂肪食誘導性の体重増加（図 1）、脂肪組織重量の増加、インスリン抵抗性（図 2）、血中中性脂肪の増加が改善された。

### 2) 筋肉特異的 UCP3 過剰発現トランスジェニックマウスの作成

筋肉特異的なエンハンサー(ミオシンライトチェーンエンハンサー)にヒトUCP3 cDNAを組み込んだコンストラクトを作成し、受精卵に挿入してトランスジェニックマウスを作成した(Muscle-UCP3)。Muscle-UCP3 トランスジェニックマウスは transgene が約 10 コピー挿入されており、ノーザンブロット解析の結果から外来性 UCP 3mRNA の発現が骨格筋でのみ認められた(1.5-2 倍)。

#### 4. 考察

これまでの研究から、UCPs (特に UCP2) のエネルギー消費/熱産生における機能が注目されていたが、実際に in vivo で UCP2 がエネルギー消費亢進に寄与しているか否かは不明であった。本研究において、脂肪組織と筋肉で 2 倍程度 UCPs を過剰発現させたところ、脂肪組織で UCP 2 を過剰発現させた場合に肥満/糖尿病/高脂血症の改善効果が認められた。本研究の成果により、初めて in vivo で UCP2 が熱産生を増加させていることが明らかとなり、UCP2 が肥満の予防/治療に有用であることが示唆された。今後、肝臓における UCP2 過剰発現トランスジェニックマウスの作成を行い、肝臓および筋肉での脂肪蓄積の増加が肥満/糖尿病の発症に関与しているか否か検討するとともに、脂肪組織で UCP2 の発現増加を惹起する新たな食事成分を探索し、肥満の新規予防法に応用したい。

#### 5. まとめ

脂肪組織に UCP2 を軽度過剰発現させたトランスジェニックマウスを作成した。このトランスジェニックマウスは高脂肪食誘導性の肥満、糖尿病、高脂血症を有意に改善した。本研究の結果から脂肪組織に UCP2 を軽度過剰発現させることは肥満/糖尿病/高脂血症の改善に効果的であることが示唆された。

#### 6. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. **Nobuyo Tsuboyama-Kasaoka** and Osamu Ezaki (2001) Mitochondrial uncoupling protein 3 (UCP3) in skeletal muscle. **Front Biosci** 6, D570-D574.

2. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, **Tsuboyama-Kasaoka N**, Ezaki O, Kadowaki T (2001) The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. **Nat. Med.** 7, 941-946.

3. Yamauchi T, Waki H, Kamon J, Murakami K, Motojima K, Komeda K, Miki H, Kubota N, Terauchi Y, Tsuchida A, **Tsuboyama-Kasaoka N**, Yamauchi N, and Kadowaki T (2001)

Inhibition of RXR and PPARgamma ameliorates diet-induced obesity and type 2 diabetes. *J. Clin. Invest.* 108, 1001-13.

4. Mayumi Takahashi, **Nobuyo Tsuboyama-Kasaoka**, Teruyo Nakatani, Masami Ishii, Shuichi Tsutsumi, Hiroyuki Aburatani and Osamu Ezaki (2002) Fish oil feeding alters liver gene expressions to defend against PPAR $\alpha$  activation and ROS production. *Am. J. Physiol.* 282, G338-G348.

5. Teruyo Nakatani, **Nobuyo Tsuboyama-Kasaoka**, Mayumi Takahashi, Shinji Miura and Osamu Ezaki (2002) Mechanism for PPAR $\alpha$  activators-induced up-regulation of UCP2 mRNA in rodent hepatocytes. *J Biol Chem.* 277, 9562-9569.

## 2. 学会発表

1. 笠岡 (坪山) 宜代, 中込圭, 高橋真由美, 仲谷照代 and 江崎治 (2001) UCP2 過剰発現トランスジェニックマウスの解析--- 遺伝性肥満(KKAy)に対する影響---. 第 55 回日本栄養・食糧学会, 京都, 5月.

2. 笠岡 (坪山) 宜代, 中込圭, 高橋真由美, 仲谷照代 and 江崎治 (2001) 肥満、糖尿病、高脂血症の発症に及ぼす UCP2 過剰発現の影響. 第 33 回日本動脈硬化学会, 東京, 6月.

3. **Nobuyo Tsuboyama-kasaoka**, Mayumi Takahashi, Kei Nakagomi, Teruyo Nakatani and Osamu Ezaki. (2001) Mice overexpressing human uncoupling protein 2 (UCP2) in adipose tissues prevents high fat diet-induced obesity and diabetes. 17th International Congress of Nutrition, Austria, August.

4. 笠岡 (坪山) 宜代 and 江崎治 (2001) 摂取脂肪レベルの違いによる共役リノール酸 (CLA) の肥満/糖尿病に対する影響. 第 48 回日本栄養改善学会, 大阪, 10月.

## 7. 知的所有権の取得状況

1) 特許取得

なし

2) 実用新案登録

なし

3) その他

なし

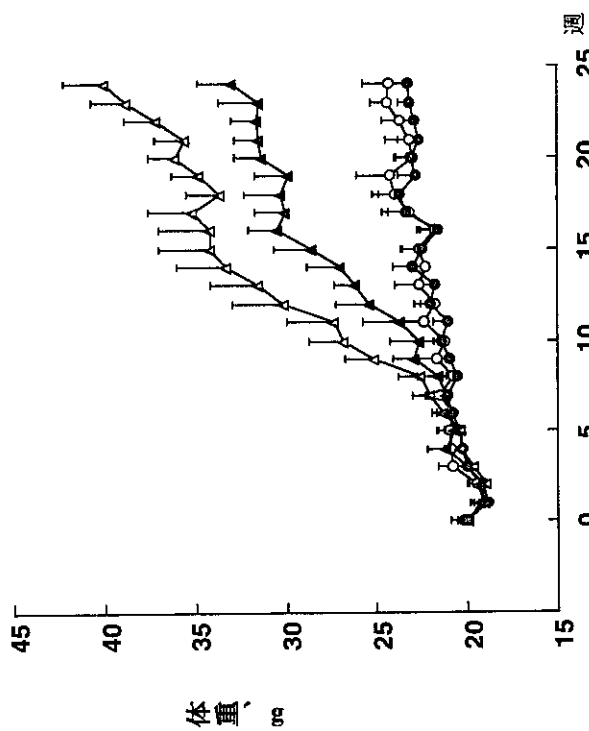
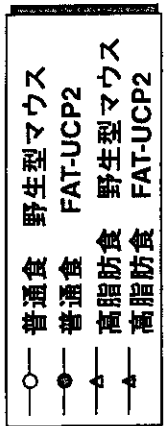


図1 脂肪組織特異的UCP2トランスジェニックマウス

(FAT-UCP2) の肥満に対する影響

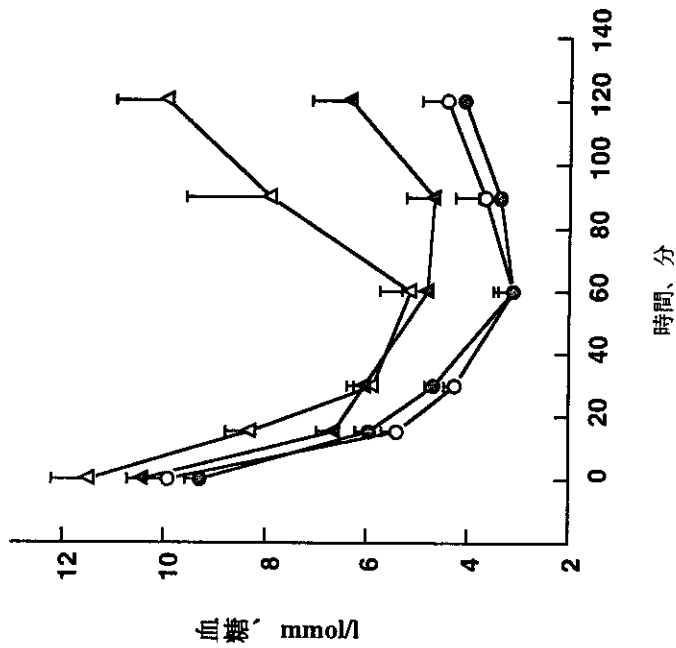
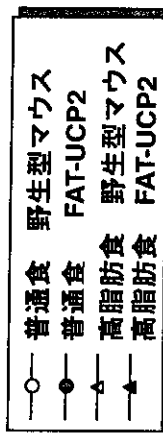


図2 脂肪組織特異的UCP2トランスジェニックマウス

(FAT-UCP2) のインスリン抵抗性に対する影響



---

平成13年度

創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業  
若手研究者奨励研究報告書

平成14年9月10日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号  
共同ビル（小伝馬町駅前）4F  
電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

---

印刷 株式会社 ソーラン社