

初め老化を制御する分子と考えられた。しかし後の研究により、 α Klothoは腎臓細管上皮細胞におけるビタミンDの合成、副甲状腺細胞からの副甲状腺ホルモン分泌、腎臓細管や脈絡叢におけるカルシウム・リンの上皮輸送を制御することが示され²⁾、 α klothoノックアウトマウスにみられる老化様表現型は、カルシウムやリン、ビタミンDの恒常性破綻に起因する代謝異常の帰結であると考えられるに至った^{3)~5)}。

一方、 α Klothoと一次、二次構造上高い相同性を有し、肝臓、膵外分泌腺組織、白色および褐色脂肪組織に高いレベルの発現を示す β Klothoの機能については、最近まで多くが謎であった。本稿では、① β Klothoの構造と分子機能、②FGF19(※1参照)- β Klothoシステムが制御するコレステロールと胆汁酸※2の代謝、③ β Klotho結合分子群から迫る新しい恒常性維持機構、についてKlothoファミリーのプロトタイプである α Klothoと比較しつつ最新のデータを踏まえて解説する。

■ β Klothoの構造と分子機能

1型膜タンパク質である α Klothoの細胞外領域には、シグナル配列に続いてグリコシダーゼ※3に類似するアミノ酸配列がタンデムに繰り返す構造がある。これら2つのグリコシダーゼ類似配列(N末端側より順にKL1ドメイン、KL2ドメインと呼ぶ)においてはいずれも、グリコシダーゼの活性中心とされるグルタミ

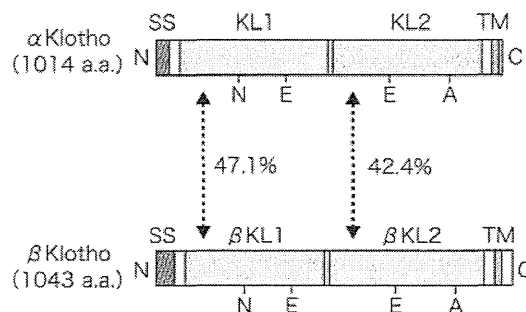


図1 α Klotho、 β Klothoタンパク質の構造

α Klotho (1014アミノ酸)、 β Klotho (1043アミノ酸)はいずれもN末端にシグナル配列(SS)、C末端側に細胞膜貫通領域(TM)を有する1型膜タンパク質で、長い細胞外領域と短い細胞内領域を有する。細胞外領域にはグリコシダーゼ類似配列の反復を有し、これらをN末端側からそれぞれKL1、KL2ドメインないし β KL1、 β KL2ドメインと呼ぶ。これらKLドメインでは、1型グリコシダーゼにおいて保存され、活性中心に位置することが知られる2カ所のグルタミン酸残基(E)のうちのそれぞれ1つずつにアスパラギン(N)ないしはアラニン(A)へのアミノ酸置換変異が認められ、このアミノ酸変異は α Klothoと β Klotho間で保存されている。KL1と β KL1のアミノ酸配列上の相同性は47.1%、KL2と β KL2の相同性は42.4%ときわめて高い。

ン酸残基に特徴的な変異が存在する(図1)。このため α Klothoの糖分解酵素としての活性はきわめて弱く、*in vitro*での検討ではわずかなグルクロン酸分解活性を示すのみである⁶⁾。この糖分解活性はグルクロン酸誘導体により競合的に阻害される⁹⁾。筆者らのグループは最近、 α KlothoがKL1、KL2ドメインを介してグルクロン酸を含む特徴的な糖鎖構造を認識し、標的タンパク質に特異的に結合することを明らかにした。これに基づき、筆者らは α Klothoによる糖鎖認識という、新しい標的分子認識のモデルを提唱しつつある。近い将来 α Klothoの立体構造が解明されれば、 α Klotho機能の構造生物学的裏付けが得られるものと期待される。 α Klothoは細胞外カルシウム濃度の低下

※1 FGF (fibroblast growth factor, 線維芽細胞増殖因子)

培養細胞の増殖活性を有することで発見されたが、現在は発生、創傷治癒などにおける広汎な生理機能が知られる。哺乳類では22種類が知られているがそのほとんどはヘパリン結合タンパク質であり、パラクリン因子として作用する。FGF受容体を介したシグナル入力には細胞表面のプロテオグリカンとの結合が必須である。しかし、本稿で取り上げるFGF19サブファミリーのようにヘパリンと結合せずエンドクリン因子として働くものや、分泌されずに細胞内で作用するものも最近報告されている。

※2 胆汁酸

哺乳類の胆汁中に多量に含まれるステロイド誘導体の総称。グリシンやタウリンなどのアミノ酸により抱合を受けた形で多く存在する。食物中の脂質をミセル化することにより、リパーゼ類による消化、腸管上皮からの吸収を容易にする機能を有することが古典的に知られるが、血液中にも微量に存在しエネルギー消費を増やす作用などが近年報告されている。

※3 グリコシダーゼ

グリコシド結合を加水分解する酵素の総称。バクテリアから哺乳類までほぼすべての生物に存在する。栄養源とするためにデンプン等の多糖類やスクロース、ラクトースのような糖類を分解する酵素。糖タンパク質のプロセッシングを行う酵素など種々多様な酵素を含む。

により KL1, KL2 ドメインを含む細胞外領域が切断され可溶性 α Klotho として血液中に放出される⁷⁾。可溶性 α Klotho の生理機能は未解明である。また KL1, KL2 ドメインの C 末端側には 1 回の膜貫通領域とごく短い細胞内領域が存在するが、これら領域の機能も未解明である。

β Klotho は α Klotho のホモログとしてクローニングされた 1 型膜タンパク質である⁷⁾。 β Klotho には α Klotho と同様、N 末端側からタンデムに並ぶグリコシダーゼ類似配列、 β KL1, β KL2 と膜貫通領域、細胞内領域が存在する (図 1)⁷⁾。KL1 ドメインと β KL1 ドメイン、KL2 ドメインと β KL2 ドメインの比較では、それぞれ 47.1%, 42.4% とアミノ酸配列上高い相同性を有するのに加え、グリコシダーゼの活性中心に該当するグルタミン酸残基のアミノ酸置換変異も共通である (図 1)⁷⁾⁸⁾。このことから α Klotho と β Klotho は 1 つのファミリー、Klotho ファミリーを構成すると考えられる。アミノ酸配列上の相同性からは Klotho-related protein (KLRP) と呼ばれるタンパク質が存在するが、KLRP は KL 様のドメイン 1 個のみからなり KL ドメインのタンデムな反復も膜貫通領域や細胞内領域も欠失している⁹⁾。KLRP は細胞内で β グリコシルセラミダーゼ活性を有する可能性が示されている¹⁰⁾。われわれは細胞外領域に KL ドメインのタンデムな繰り返しを有する膜タンパク質であることを重要な特徴であると考へ、 α Klotho と β Klotho の 2 つを Klotho ファミリー分子と呼んでいる。

β Klotho の酵素としての糖分解活性については、少なくとも α Klotho が基質としたグルクロン酸は基質とはならないことがわかっている以外は現在全く不明であり、認識する糖鎖構造についても情報が得られていない。しかし、上述のような KL ドメインと β KL ドメインのアミノ酸配列上および配置上の高い相同性からは、 β Klotho もやはり何らかの糖鎖認識を介して標的タンパク質と結合し、結合相手の分子機能を調節するものと考えられる。

■ FGF19- β Klotho システムが制御する コレステロールと胆汁酸の代謝

α Klotho タンパク質が主に副甲状腺、腎尿管、脈絡叢に分布するのに対し、 β Klotho は肝臓、膵外分泌

腺組織、白色および褐色脂肪組織に高レベルの発現を示す⁷⁾。早発性の老化様表現型を示す α klotho ノックアウトマウスとは異なり、 β klotho ノックアウトマウス (β kl KO) では、老化類似の表現型は認められず、代わりに胆嚢サイズの縮小と糞便中胆汁酸排泄量の増加が観察された⁸⁾。そこで肝臓における胆汁酸代謝酵素群の発現を検討したところ、 β kl KO ではコレステロールから胆汁酸を合成する経路の律速段階を担う 7 α -hydroxylase (*cyp7a1*) の遺伝子発現の亢進が認められた⁸⁾。胆汁酸への代謝・胆汁中への排泄は、コレステロールの最大かつほぼ唯一のクリアランス経路であり、*cyp7a1* の遺伝子発現の亢進は胆汁酸のみならず、体内のコレステロール動態にも大きな影響を及ぼすと考えられる。しかし β kl KO と対照野生型同胞との間の血清コレステロール値の差はわずかであり、 β kl KO の肝臓では HMG-CoA reductase の発現が亢進することにより、*de novo* のコレステロール合成が増加し、コレステロール欠乏が代償されるものと考えられる⁸⁾。一方、 β kl KO を高脂肪食下で飼育すると、血清のカイロミクロンや VLDL (very low density lipoprotein) が高脂肪食下の野生型マウスと比較して低い傾向を示し、トリグリセライド代謝の異常が示唆される。筆者らは現在、肝細胞特異的 β klotho トランスジェニックマウスとの交配により、肝臓での β Klotho 発現をレスキューした β kl KO を作製し、高脂肪食下の脂質代謝に関する詳細な解析を行っている。

β kl KO を解析していた筆者らのグループとは独立に研究が進んだのが FGF15/FGF19 の機能解析である (齧歯類の FGF15 はヒト FGF19 のオルソログと考えられている¹¹⁾)。稲垣らは、①マウスに対する FGF15 の投与やアデノウイルスによる過剰発現が肝臓での *cyp7a1* 発現を強力に抑制すること、② FGF15/19 の受容体とされる *fgfr4* のノックアウトマウスにおいては、そもそも *cyp7a1* 発現が亢進しており、また FGF15 による発現抑制が全くみられないこと、を報告した¹²⁾。筆者らは *cyp7a1* の発現亢進が *fgfr4* ノックアウトマウスと β kl KO の肝臓で共通して認められることから、FGF15/19 シグナル伝達における β Klotho の意義を解明するために β kl KO に対する FGF19 の投与実験を行った。FGF19 を野生型マウスに投与すると肝臓における *cyp7a1* 発現が著明に抑制されたが、 β kl KO で

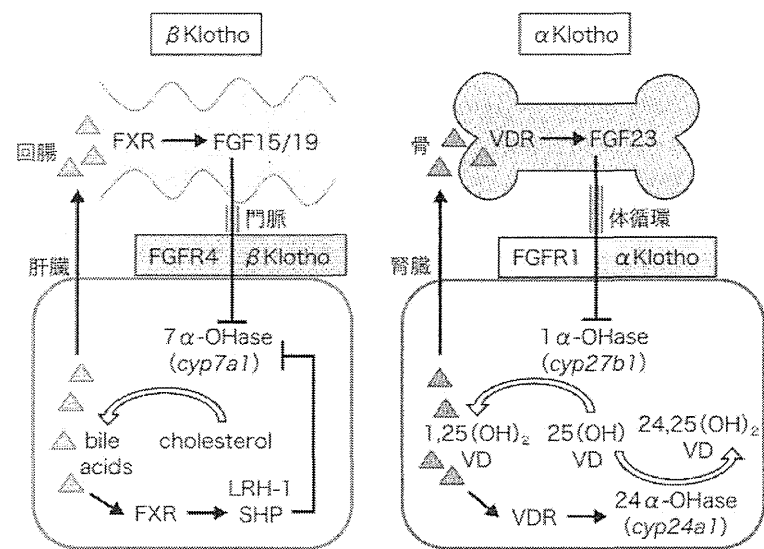


図2 Klotho-FGFシステムによる代謝制御—βKlothoとαKlothoの制御世界
胆汁酸は回腸においてFXR依存性にFGF15/19を発現誘導する。FGF15/19は門脈を介して肝臓に到達し、FGFR4、βKlothoからなる受容機構を介してシグナルを伝達し、7α-hydroxylase (7α-OHase, *cyp7a1*) の遺伝子発現を抑制することで、コレステロールからの胆汁酸の*de novo*合成を阻害する。このような小腸-肝臓間の臓器間情報伝達を介したネガティブフィードバック制御に加えて、胆汁酸は直接肝臓内においてFXR依存性にSHPの発現を増加させることで7α-OHase発現を抑制するという臓器自律的なネガティブフィードバック制御機構を持っている。一方、活性型ビタミンDである1,25(OH)₂VDはVDR依存性に骨においてFGF23の発現を誘導する。FGF23は循環血中を介して腎臓に到達し、FGFR1、αKlothoからなる受容機構を介してシグナルを伝達し、1α-hydroxylase (1α-OHase, *cyp27b1*) の遺伝子発現を抑制することにより低活性前駆体25(OH)VDからの活性型1,25(OH)₂VD合成を阻害する。このような骨-腎臓の臓器連関によるネガティブフィードバック制御に加えて、1,25(OH)₂VDは直接腎臓内においてVDR依存性に24α-hydroxylase (24α-OHase, *cyp24a1*) の遺伝子発現を増加させる。24α-OHaseは25(OH)VDを活性の低い24,25(OH)₂VDに変換することで活性型の1,25(OH)₂VDの産生に阻害的に働く。このようにβKlotho-FGF15/19システムとαKlotho-FGF23システムとはきわめて整った生理機能上の相関性を示す

はもともと *cyp7a1* 発現が亢進しており、FGF19投与によっても全く変化を示さなかった¹³⁾。以上よりFGF15/19による *cyp7a1* 発現抑制にはFGFR4とともにβKlothoが必須であることが個体レベルで証明された(図2)¹³⁾。

FGF15/19は遠位回腸において胆汁酸受容体FXR (farnesoid X receptor) 依存性に発現誘導される¹⁴⁾。つまり肝臓から胆汁酸が分泌されると、回腸でFGF15/19の産生が誘導され、FGF15/19は門脈を介してFGFR4・βKlotho依存性に肝臓に作用し、コレステロールからの*de novo*の胆汁酸合成を抑制する¹³⁾。このことは、FGF15/19が、胆汁酸合成のネガティブフィードバック制御を担うホルモンとして作用することを意味する¹²⁾。胆汁酸合成のネガティブフィードバック制御としては、胆汁酸産生臓器である肝臓での

FXR, LRH-1 (liver receptor homolog-1), SHP (small heterodimer partner) を介する臓器自律的な機構がすでに知られている¹⁵⁾。FGF15/19やβKlothoの研究から明らかとなった *cyp7a1* 制御機構は、回腸のFXR・FGF15/19と、肝臓のFGFR4・βKlothoから構成される小腸-肝臓間の臓器連関に基づく新しい制御システムである¹³⁾。胆汁酸の合成が臓器内および臓器間という2つの異なるレベルのネガティブフィードバック制御を受けていることはきわめて興味深い(図2)。

Klothoを介するコレステロール誘導体産生のネガティブフィードバック制御は、実はβKlothoだけではなくαKlothoでも明らかとなっている。FGF15/19は①アミノ酸配列の類似性、②受容体への結合にヘパラン硫酸を必要としないこと、の2点に基づきFGFファ

ミリーの中ではFGF21, FGF23と併せてFGF19サブファミリーに分類される¹¹⁾。FGF19サブファミリーに属するFGF23は α Klothoと結合する。また株化細胞への遺伝子導入実験によればFGF23による細胞内シグナルの活性化は α Klotho依存性である^{16) 17)}。さらに、*fgf23*ノックアウトマウスと α klothoノックアウトマウスの表現型は高い類似性を示すことから¹⁸⁾、FGF23作用における α Klothoの重要性が示唆された¹⁷⁾。FGF23はVDR (vitamin D receptor) 依存性に骨で産生され、血液中を循環して腎尿管上皮細胞に作用して活性型ビタミンDの合成酵素、 1α -hydroxylase (*cyp27b1*) の発現を抑制する。筆者らは α klothoノックアウトマウスにFGF23を投与し、腎臓における*cyp27b1*の発現変化を検討した。 α klothoノックアウトマウスではもともと*cyp27b1*の発現が亢進しており、野生型マウスで認められるFGF23誘導性の*cyp27b1*発現の抑制が全く認められなかった¹⁹⁾。

以上より、胆汁酸のネガティブフィードバック制御を担うFGF19- β Klothoシステムに対して、FGF23- α Klothoシステムは骨と腎臓の臓器連関に基づくビタミンDのネガティブフィードバック制御を司っていることが明らかとなった(図2)。FGF19の受容体であるFGFR4や、FGF23の受容体であるFGFR1は、多数の臓器や細胞に広く発現している。そのため産生細胞の局所でヘパラン硫酸にトラップされることなく血液中を循環し得るFGF19サブファミリーのFGFが、遠隔臓器の正しい標的細胞にのみシグナルを入力できるのは、 β Klothoや α Klothoが体内で限局した発現パターンを示すからである、と考えられる。この意味でKlothoファミリー分子は、FGFによる遠隔臓器間の正確な情報伝達を担保する分子マシナリーであるということが出来る¹⁰⁾。

③ β Klotho 結合分子群から迫る新しい恒常性維持機構

β KlothoによるFGF15/19の特異的認識、あるいは α KlothoによるFGF23の特異的認識はいかなる分子機序により実現されるのか。FGF15/19, FGF23, β Klotho, α Klothoはいずれも糖鎖修飾を受けるタンパク質である。筆者らのグループでは、FGFに付加された特殊な糖鎖構造をKlothoが認識することにより

表 免疫共沈物のプロテオーム解析から明らかとなった β Klotho結合分子

- | |
|---------------------------|
| ① FGF受容体およびFGFシグナル伝達分子 |
| ② プロテオグリカン |
| ③ 細胞膜での物質輸送に関わる膜輸送分子 |
| ④ ミトコンドリアでの酸化・ATP産生に関わる分子 |
| ⑤ タンパク質の糖鎖修飾に関わる分子 |
| ⑥ 細胞膜の裏打ちタンパク質 |
| ⑦ 細胞内小胞輸送関連分子 |
| ⑧ その他 |

FGF-Klotho複合体が形成されると考えている。例えばFGF23がFGFR1に結合するためには、あらかじめFGF23- α Klotho複合体が形成されていることが必要である。FGF23- α Klotho間の結合には、タンパク質骨格と特異的糖鎖の両方が寄与すると考えられ、特に糖鎖により規定される特異的な分子認識には α Klothoのグリコシダーゼ類似配列が重要な働きをすることが示されつつある。

Klothoが糖鎖認識分子であるならば、FGF以外の糖タンパク質とは結合しないのであろうか。筆者らは β Klothoタンパク質を発現する肝臓、脾臓、脂肪組織における新しい β Klotho結合分子の探索を行った。これら臓器のライセートを抗 β Klotho抗体で免疫沈降し、免疫共沈物のプロテオーム解析を行った。その結果、臓器間で共通の分子、臓器特異的な分子など多数の共沈物のアノテーションの決定に成功した。この解析により β Klotho結合分子は多くの機能群に分類されるタンパク質にわたることが示され、これらは表に示すグループに大別することができる。では種々の分子と β Klothoの相互作用はどのような生理的機能を有するのだろうか。

α KlothoはFGF23以外に、副甲状腺、腎臓、脈絡叢のいずれの発現臓器においてもNa, K-ATPase (NaK)と結合している²⁾。 α Klothoは、細胞外カルシウム濃度の低下に応答したNaKの速やかな細胞膜表面へのリクルートに必要である²⁾。細胞生物学的なメカニズムは完全には解明されていないが、この α Klotho依存性のNaKの細胞膜移行、その結果としてのATP依存性Na/K輸送活性の増加は、低カルシウム刺激に

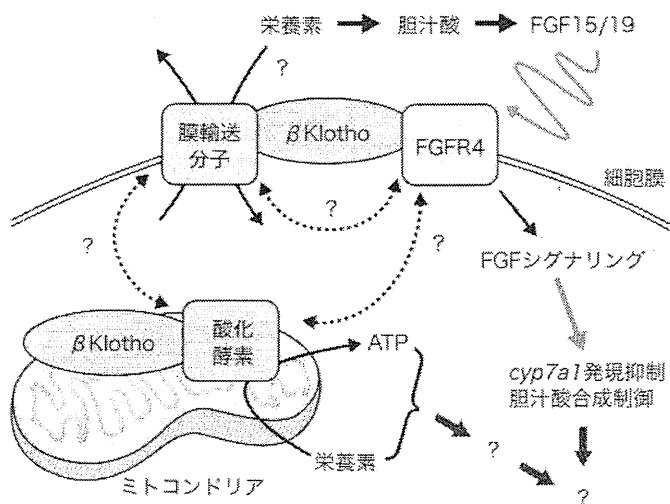


図3 タンパク質間相互作用を介した β Klotho の代謝制御機能 (仮説)

β Klotho の結合分子には FGF15/19 のシグナル受容に関わる分子群、膜表面での物質輸送に関わる分子群、ミトコンドリアにおける酸化等の代謝酵素群、などがある (表)。 β Klotho は α Klotho と同様、糖鎖認識を介したタンパク質間相互作用分子であると考えられることから、これら分子群との結合を介して標的分子の機能を調節するものと考えられる。 β Klotho が複数の種類の結合パートナー分子と同時に結合できるのか、結合は相互排他的なのか、あるいは、それぞれのパートナーとの結合は独立して制御されているのかは、現在のところ不明である。 α Klotho は FGF23, FGFR1 との結合を介してビタミン D の合成を制御する一方、Na, K-ATPase との結合により低カルシウム応答性の副甲状腺ホルモン分泌やカルシウム上皮輸送を制御し、全体として体液カルシウム・リン恒常性を維持する。このことから β Klotho も結合分子群との相互作用を介した、FGFシグナル伝達以外の生理機能を有するものと考えられ、今後の研究の進展が期待される

よる副甲状腺ホルモンの分泌誘導に必須であることが示されている²⁾。例えば α klotho ノックアウトマウスの副甲状腺、あるいは NaK 阻害薬である ouabain の存在下では、低カルシウム刺激による副甲状腺ホルモンの分泌が著しく障害される^{21) 19)}。また、低カルシウム誘導性、 α Klotho 依存性の Na/K 輸送活性の増加は NCX (Na/Ca exchanger), NaPi (Na-dependent phosphate transporter) 等を介した脈絡叢や腎尿細管でのカルシウム・リンの上皮輸送にも必要であると考えられる。糖尿病性腎症の腎臓における α Klotho の発現低下はこの α Klotho 依存性のカルシウム再吸収の障害をもたらし、糖尿病における尿中へのカルシウム喪失の一因となっている可能性が示唆される²⁰⁾。単一の分子である α Klotho が、分子進化上、FGFシグナル制御と NaK 活性制御の2つの独立した分子機能を獲得するに至った理由、また異なった分子メカニズムでありながら最終的にはビタミン D 制御や副甲状腺ホルモン分泌等の個体のカルシウム・リン恒常性維持に必須の

プロセスに関与していることの必然性は大きな謎である。

翻って β Klotho の結合分子群を俯瞰するとき、 α Klotho と同様に細胞膜近傍における FGFシグナル受容と、細胞膜内外の物質輸送の両方に関与していることが示唆される。加えて β Klotho はミトコンドリア膜にも存在する可能性が示唆され、ミトコンドリアにおける栄養分子の酸化や ATP 産生における機能も示唆される。糖鎖修飾に関連する分子群や細胞膜の裏打ちタンパク質群、細胞内の小胞輸送関連分子との相互作用は、これら細胞生理機能を発揮するための分子基盤を担うものと考えられる。これらの分子との結合により β Klotho は、①小腸から肝臓への栄養情報のメッセンジャー、FGF15/19 のシグナル受容、②栄養分子等の細胞膜内外の物質輸送制御、③ミトコンドリアにおけるエネルギー産生制御、の3つの機能を果たす、エネルギー代謝情報のインテグレーターであると考えられる (図3)。

おわりに

β Klothoの分子機能の本質は、糖鎖認識を介した糖タンパク質間相互作用と、その結果としての膜上での複合体形成にあると考えられる。細胞レベルにおいては、FGFのシグナル受容、膜内外の物質輸送、さらにはミトコンドリアでのエネルギー産生の3つの機能制御を相互に連携させる役割を果たすと考えられる。しかし、これを裏付ける実験データは未だ不十分であり、今後の大きな研究課題である。個体レベルの代謝恒常性における意義として特筆に値するのは、FGF15/19のシグナル伝達に必須の分子として、小腸からの栄養情報を肝細胞に限定して伝えることにより、小腸-肝臓間の臓器連関を可能とすることである。肝臓での胆汁酸合成制御に加え、脂肪細胞や膵外分泌細胞における新しい結合分子群を介した β Klothoの機能が明らかになれば、個体レベルのエネルギー代謝恒常性を担う臓器間ネットワークの動的安定性の本質に迫ることができるものと期待される。

β Klotho 免疫共沈物のプロテオーム解析においては、北海道大学大学院生命科学院の小布施力史教授にご協力いただきました。感謝申し上げます。

文献

- 1) Kuro-o, M. et al. : Nature, 390 : 45-51, 1997
- 2) Imura, A. et al. : Science, 316 : 1615-1618, 2007
- 3) Yoshida, T. et al. : Endocrinology, 143 : 683-689, 2002
- 4) Tsujikawa, H. et al. : Mol. Endocrinol., 17 : 2393-2403, 2003
- 5) Nabeshima, Y. & Imura, H. : Am. J. Nephrol., 28 : 455-464, 2008
- 6) Tohyama, O. et al. : J. Biol. Chem., 279 : 9777-9784, 2004
- 7) Ito, S. et al. : Mech. Dev., 98 : 115-119, 2000
- 8) Ito, S. et al. : J. Clin. Invest., 115 : 2202-2208, 2005
- 9) Yahata, K. et al. : J. Mol. Med. (Berl), 78 : 389-394, 2000
- 10) Hayashi, Y. et al. : J. Biol. Chem., 282 : 30889-30900, 2007
- 11) Itoh, N. & Ornitz, D. M. : Dev. Dyn., 237 : 18-27, 2008
- 12) Inagaki, T. et al. : Cell Metab., 2 : 217-225, 2005
- 13) Tomiyama, K. et al. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 107 : 1666-1671, 2010
- 14) Stroeve, J. H. et al. : Lab. Invest., 90 : 1457-1467, 2010
- 15) Lu, T. T. et al. : Mol. Cell, 6 : 507-515, 2000
- 16) Kurosu, H. et al. : J. Biol. Chem., 281 : 6120-6123, 2006
- 17) Urakawa, I. et al. : Nature, 444 : 770-774, 2006
- 18) Shimada, T. et al. : J. Clin. Invest., 113 : 561-568, 2004
- 19) Brown, E. M. et al. : Metabolism., 36 : 36-42, 1987
- 20) Asai, O. et al. : Kidney Int., 81 : 539-547, 2012

<筆頭著者プロフィール>

田中智洋：1992年大阪教育大学附属平野高校卒業、'98年京都大学医学部卒業、京大病院、鶴田附興風会北野病院における臨床研修後、2001年~'05年、京都大学・医・内科学講座臨床病態医科学（中尾一和教授）博士課程在学、肥満病態におけるレプチン作用不全に関する研究により学位を取得、'06年より京都大学・医・腫瘍生物学講座（鍋島陽一教授）にてエネルギー恒常性における β Klothoの分子機能の研究に従事、'11年~鍋島研究室の移動に伴い、先端医療センター主任研究員、'12年~同客員主任研究員と京都大学・医・メディカルイノベーションセンター特定准教授を兼任、中枢神経系、脂肪組織、肝臓、膵臓、骨格筋等の臓器間ネットワークの理解に立脚した代謝制御研究にあふれる情熱を燃やしている。

摂食調節

摂食調節のシステム

1 エネルギーバランスを保つしくみ

ヒトをはじめとする哺乳動物には、それぞれの動物個体に特有な体脂肪量のセットポイントが存在し、体重はきわめて狭い範囲内に維持されている。たとえば、ヒト被験者に数カ月間の食事制限ないしは過量摂食を実行させることにより、意志の力で人工的に体重減少や増加を誘導することは比較的容易である。しかし、試験期間終了後に自由摂食にすると、2~3カ月の間にほとんどの被験者の体重はほぼ試験開始前の値に戻ることが知られている。体重・体脂肪量の恒常性は、末梢臓器におけるエネルギーの余剰あるいは枯渇を脳が感知し、その情報に基づいて食欲・食行動、基礎代謝などを厳密に調節することによって維持されている。一方、体重や体脂肪量はきわめて個体差の大きい指標であるが、各個人における体重・体脂肪量のセットポイントは遺伝的要因に加え、胎児期・小児期の栄養環境に基づくエピジェネティックな変化により規定されると考えられている。

このような長期的な体重維持システムとは別に、その時点での空腹や満腹、運動に伴う栄養ニーズなどを感知して作働する短期的な摂食調節システムも存在し、われわれの摂食は短期と長期のシステムにより多階層的にコントロールされている。

2 摂食調節における情報の流れ

脳機能は高等動物の生存に必須であることから、脳へのエネルギー供給は生理的範囲内の空腹、満腹、食餌制限、過食により大きく増減することはない。そのため、末梢のエネルギー状態を感知して中枢神経系に伝達するしくみが必要となる。すなわち、①消化管、肝臓、骨格筋、脂肪組織など栄養素（本項目でいう栄養素とは主要栄養素（macronutri-

ent）を示す）の出納や蓄積に直接関与する臓器が、なんらかの分子機序によりエネルギーの余剰・枯渇を感知して中枢神経系に伝達する。②情報は中枢神経系内のネットワークにより統合され、③食欲、食行動や摂食動作などが制御される（図1）。

末梢のエネルギーセンサーと摂食中枢への情報伝達機構

1 摂食の急性制御

1) 消化管の物理的刺激に基づく制御

われわれは食事を摂取しはじめた後、際限なく食べ続けることはなく、必要な栄養素を摂取し終えたところで摂食行動を終了する。この調節は栄養素の吸収や血液中の循環よりも早いタイミングで作働し、食物にもっとも早く触れる上部消化管からの情報に基づくと考えられている。とくに、胃・十二指腸壁の伸展刺激は迷走神経求心路を介して中枢神経系へシグナルを伝達し、摂食を抑制する（図1）。

さらに、実験動物に食道瘻を造設し、食物が口腔内のみを通過するようにしても摂食による空腹感の減少が観察されることから、口腔内の刺激も中枢神経系へ伝達され食欲調節にかかわると考えられる。

2) 消化管ホルモンによる制御

栄養素による化学的刺激や消化管の壁進展などは、消化管ホルモンとよばれる一群の液性因子（表1）の分泌を誘導することにより、中枢神経系にシグナルを伝達して摂食を調節する。消化管ホルモンには、胃のX/A細胞から分泌され摂食を促進するグレリン、十二指腸・上部小腸のI細胞から分泌され摂食を抑制するコレシストキニン（cholecystokinin：CCK）、回腸・結腸のL細胞から分泌され摂食を抑制するペプチドYY（peptide YY：PYY）やグルカゴン様ペプチド（glucagon-like peptide：GLP-1）などがある。これらペプチドホルモンは産生細胞内で前駆体蛋白として合成され、その後、プロセシング

酵素によって切断されることにより種々のアミノ酸長、種々の生理活性を有するペプチドとして血液中や組織液中に分泌される(図1)。グレリンを除くと、消化管ホルモンのほとんどすべては摂食抑制ホルモンである。

消化管ホルモンの分泌細胞が食物によるどのような刺激をどのような分子メカニズムにより感知する

のかは、完全には解明されていない。たとえばアミノ酸は、G蛋白共役型受容体の活性化、膜トランスポータ依存性の細胞内流入などを介してCCK、GLP-1などの分泌を誘導する可能性が指摘されているが、メカニズムについては未知の点が多い。また、CCK、PYY、GLP-1などをもっとも強力に分泌誘導する脂質についても、G蛋白共役型受容体や

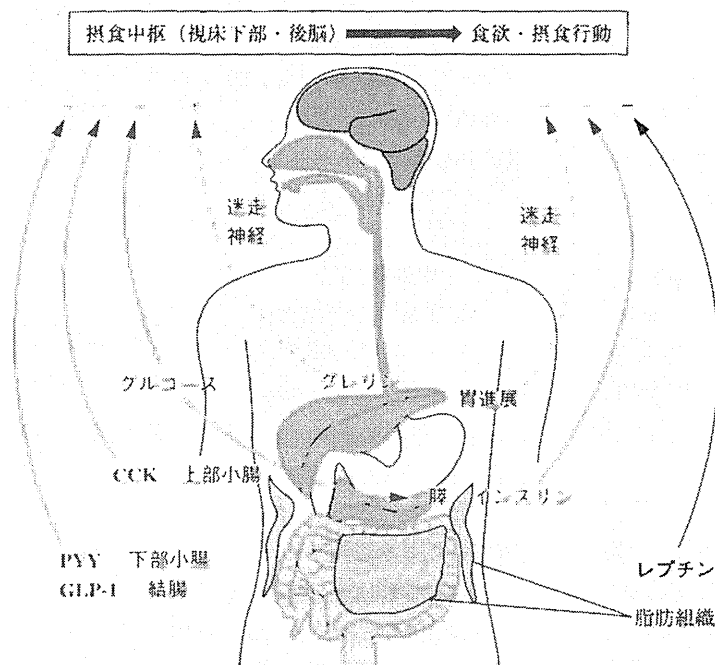


図1 摂食のフィードバック制御機構

食物が経口摂取されると、胃・十二指腸壁の伸展刺激が迷走神経求心路を介して摂食を抑制する。食物は消化管ホルモン〔コレシストキニン (CCK)、ペプチドYY (PYY)、グルカゴン様ペプチド (GLP)-1など〕の分泌を促し、これらは摂食中枢に作用することにより摂食を抑制する。胃から分泌されるグレリンは空腹時に血中濃度がピークとなるホルモンで、摂食を促進する。吸収されたグルコースなどの栄養素は視床下部に直接作用したり、あるいは膵β細胞からのインスリン分泌を促すことによる間接的作用により摂食を抑制する(以上は急性制御：青字)。一方、慢性的な脂肪組織重量の増加は脂肪細胞からのレプチンの産生・分泌を増加させることにより摂食を抑制する(慢性制御：黒字)

表 摂食抑制・亢進をおこすおもなホルモン・ニューロペプチド

産生部位	摂食抑制因子	摂食促進因子
末梢組織	レプチン (脂肪細胞) インスリン (膵β細胞) コレシストキニン (上部消化管) GLP-1(下部消化管) PYY (下部消化管) アミリン (膵β細胞)	グレリン (胃) コルチゾール (副腎皮質)
中枢神経系	α-MSH CRH セロトニン ノルアドレナリン CART ニューロメジン S/U	NPY AGRP MCH オレキシン ガラニン

()内は末梢組織におけるおもな産生部位

GLP-1: グルカゴン様ペプチド-1, PYY: ペプチドYY, α-MSH: α-メラニン細胞刺激ホルモン, CRH: 副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン, CART: コカイン・アンフェタミン調節転写産物, NPY: ニューロペプチドY, AGRP: アグーチ関連蛋白, MCH: メラニン凝集ホルモン

Toll 様受容体 (Toll-like receptor : TLR) などの関与を示唆する報告があるが、機序はよくわかっていない。

グレリンはアシル化修飾を受けたペプチドで、血中濃度が空腹時にピークとなり、摂食により速やかに低下する摂食促進ホルモンである。胃から分泌されたグレリンは体循環を介して中枢神経系のグレリン受容体、すなわち成長ホルモン分泌促進因子受容体 (growth hormone secretagogue receptor : GHS-R) を発現する細胞にも作用しうると考えられるが、摂食促進作用はおもに胃に分布する迷走神経終末の GHS-R を標的としたパラクリン作用であると考えられている。

3) 栄養素などの血中濃度上昇に応答した制御

消化管壁の物理的刺激、消化管ホルモンの分泌に引き続いて食物中の栄養素が吸収され、その血中濃度が上昇する。血中グルコース、アミノ酸、脂質代謝産物 (ケトン体、脂肪酸など) などを感じて摂食を調節するシステムの存在は古くから提唱されてきた。実際、視床下部には血中グルコース濃度の上昇により発火頻度が高くなるニューロン、逆に低くなるニューロンが存在することから、循環血液中のグルコースは直接、摂食中枢の神経活動を変化させることで摂食を調節しうると考えられる。

摂食に伴う GLP-1 などの分泌、血糖の上昇などは膵β細胞からのインスリン分泌を促進する。食後に分泌されたインスリンは視床下部のインスリン受容体発現細胞に作用し、摂食を抑制する (図1)。

2 摂食の慢性制御

1) 脂肪細胞による制御

前述のように、個人の体重にはセットポイントがあり、これから大きく外れるような変化に対して生体は、食欲・摂食量を調節して元の体重に戻そうとする反応を示す (adipostat theory)。末梢の余剰エネルギーの大半は、栄養素の中で単位重量あたりのカロリーがもっとも高い脂質の形で脂肪組織に貯蔵されることから、脂肪組織量を感知して中枢神経系に伝えるシステムの存在が示唆される。レプチンは 16 kDa の蛋白質からなるホルモンで、脂肪組織重量に比例した量が脂肪細胞特異的に産生・分泌される。レプチンは主として視床下部弓状核に発現するレプチン受容体 LRb を介して摂食を抑制する (図

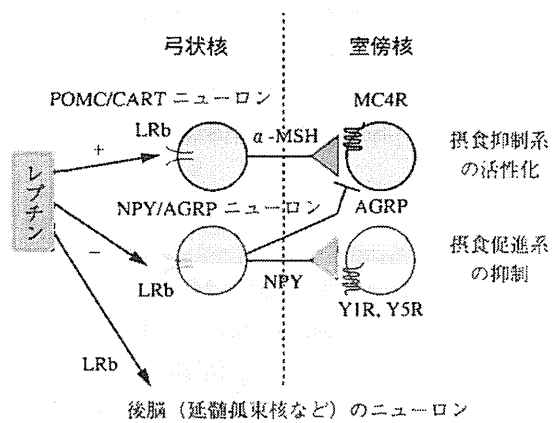


図2 視床下部弓状核を構成するおもなニューロンとレプチンによる機能制御

レプチンは視床下部弓状核の POMC/CART ニューロン、NPY/AGRP ニューロンに存在するレプチン受容体 (LRb) を介してシグナルを伝達する。レプチンは摂食抑制性のニューロペプチドであるα-メラニン細胞刺激ホルモン (α-MSH) の前駆体プロオピオメラノコルチン (POMC) の遺伝子発現を促進し、摂食亢進物質であるニューロペプチド Y (NPY)、アグーチ関連蛋白 (AGRP) の遺伝子発現を抑制する。POMC からプロセッシングを経て産生されたα-MSH は投射先である室傍核のニューロンにおいて4型メラノコルチン受容体 (MC4R) を介して情報を伝達し、NPY は Y1R、Y5R を介して情報を伝達する。AGRP は MC4R に対する内在性のアンタゴニストとして作用することによりメラノコルチン系に拮抗し、摂食を促進する

2). レプチンやレプチン受容体の遺伝子変異はヒト、マウス、ラットのいずれにおいても単独で高度の遺伝性肥満の原因となることから、適正な体重の維持にはレプチンが正常に作用することが必須であることがわかる。

種々の病因により体脂肪量が著しく減少する全身性脂肪萎縮症の症例やモデル動物では、レプチン分泌不全とともに過食が認められる。この病態に対してリコンビナントレプチンを補償量投与することにより、脂肪組織は乏しいままであっても症例にみられる食後満腹感の欠如、モデル動物における過食のいずれもが改善する。一方、脂肪萎縮症モデルマウスにレプチン欠損マウス由来の脂肪組織を移植しても過食は改善されない。よって、脂肪萎縮症に伴う食欲亢進の主たる原因はレプチンの欠乏であると考えられる。

2) 環境温度と摂食量

冬眠のない哺乳動物では一般に、高温環境において摂食量は減少し、低温環境では増加する。これ

7 章
肥満症とやせ

は、低温下における熱産生のニーズや体脂肪獲得のメリットを考えると理にかなった応答であり、いずれも視床下部に存在する体温調節中枢と摂食調節中枢のクロストークによるものと考えられている。



摂食中枢の神経ネットワーク

1 視床下部に局在する空腹中枢と満腹中枢

自律神経系の中核である視床下部には多くの神経核が存在し、これら神経核に局在する多様なニューロンが、体温、日内リズム、性腺機能・性行動、飲水、摂食などを制御している。実験動物において視床下部外側核を電気的に刺激すると過食となり、逆に同核を破壊すると餌を呈示しても食べようとせず衰弱に陥る。このことから、外側核は空腹中枢と考えられる。これに対し、視床下部腹内側核の電気刺激は動物の摂食意欲を消失させ、逆に破壊は過食を誘導することから、腹内側核は満腹中枢といえる。空腹中枢である外側核には血糖低下で発火頻度が高くなるニューロンが存在し、満腹中枢である腹内側核には血糖上昇により発火頻度が高くなるニューロンが存在する。空腹中枢、満腹中枢の存在は腫瘍などによる障害の部位と食行動異常との関連性の解析により、古くからヒトでも知られていた。室傍核の破壊は摂食亢進を、背内側核の破壊は摂食抑制を生じるが、これら神経核の役割は外側核、腹内側核ほど単純ではない。

2 末梢代謝情報のゲートウェイとしての視床下部弓状核

レプチンやインスリンなど末梢の栄養状態を反映するホルモンがまずアクセスする中枢部位は、視床下部弓状核と考えられている。CCK やグレリンからの情報も弓状核に到達するが、これらのシグナルはまずは延髄孤束核などの後脳の摂食中枢を介すると考えられている。視床下部と後脳の摂食中枢の関係については精力的に研究が行われつつある。

弓状核には2種類の重要なニューロン、すなわちいずれもプロオピオメラノコルチン (proopiomelanocortin : POMC) とコカイン・アンフェタミン調節転写産物 (cocaine and amphetamine regulated transcript : CART) を発現する摂食抑制系のニューロンと、ニューロペプチド Y (neuropeptide Y : NPY) とアグーチ関連蛋白 (agouti-related protein : AGRP) を

発現する摂食促進系のニューロンが存在する (表)。摂食抑制ホルモンであるレプチンは、POMC/CART ニューロンの活性化により、POMC からプロセシングされて生じる摂食抑制性の α -メラニン細胞刺激ホルモン (α -melanocyte-stimulating hormone : α -MSH) の産生促進をおこす一方で、NPY/AGRP ニューロンの活性を抑制することにより、NPY、AGRP の産生を抑制する。両者の効果により摂食は抑制され、エネルギー消費は亢進する (図2)。弓状核の POMC/CART ニューロン、NPY/AGRP ニューロンの多くがレプチン受容体を発現しており、レプチンにより直接の活性制御を受けることから、レプチン作用の一次ニューロンと考えることができる。これらの一次ニューロンはおもに室傍核の二次ニューロンに投射して情報を伝達する (図2)。摂食調節とエネルギー消費・基礎代謝の調節は、少なくとも視床下部のレベルにおいては神経核、ニューロン、投射経路を共有することが多い。

3 摂食中枢における情報の統合と摂食行動の誘導メカニズム

視床下部ニューロンの活性化や活性抑制がいかなる経路により空腹感や満腹感、食探索行動の誘導をひきおこすのかについては多くが未解明である。ラットにおける上位中脳切断は、唾液分泌、咀嚼、嚥下などの摂食動作そのものを障害しないことから、摂食動作の中枢は脳幹に存在し、視床下部は摂食動作中枢よりも上位に位置して摂食行動の開始や中止を指示していると考えられる。

一方、視床下部よりもさらに上位の制御系についても多くは明らかにされていない。視床下部は前頭前皮質や扁桃体からの密な投射を受けており、いつ、何を、どれだけ食べるかの決定には、これら上位中枢がかかわっていると考えられる。扁桃体への入力としては嗅球からの投射がとくに重要であり、両側扁桃体を破壊した動物では食餌の内容、量の両方のコントロールが不可能となる。加えて、とくにヒトにおいては、情動や視覚刺激など大脳辺縁系、新皮質などからの入力も食欲・摂食行動に大きな影響を及ぼすと考えられる。しかしその解剖学的、生理学的実体はいまだ定かではない。

近年の functional MRI などのイメージング技術の進歩により、食欲や空腹感・満腹感と関連して活動

性が変化する脳領域がヒトにおいて同定されるようになった。高次の食欲、摂食調節におけるこれら領域の機能的意義の解明が期待される。

個体のエネルギー貯蔵量が正常範囲を下回ると、視床下部領域などにおける摂食を促進する細胞の神経活動が亢進し、動物個体は空腹感を自覚して食探索行動、摂食動作を開始する。一方、エネルギー貯蔵量が十分になると満腹感を自覚し摂食行動を中止する。これらの変化は多くのインプットの複合的な総和として生じ、また短期～長期の種々のタイムスパンをもつ制御系の重複した作用により実現される。

■ 摂食調節と報酬系のかかわり

動物にとって、食物の摂取は根源的欲求の充足である。近年、摂食中枢の機能制御に対する報酬系 (reward circuits) の関与が明らかとなってきた。報酬系とは、欲求が満たされたときに活性化し、その個体に快の感覚を与える神経回路のことである。麻薬などの薬物の摂取による報酬系の強い活性化は、さらなる薬物摂取への渇望とそのための行動を惹起し、薬物依存の原因となる。報酬系を担う中心的な回路は、中脳の腹側被蓋野から側坐核ないし前頭前皮質に投射するドパミン神経系であることがわかっている。実験動物で側坐核のドパミン局所濃度を測定すると、交尾や依存性薬物の摂取時と同様、摂食によってもドパミン濃度の上昇が観察される。側坐核の破壊動物やドパミン合成酵素の欠損動物においては摂食量が減少すること、中脳のドパミンニューロンの一部はレプチン受容体やGHS-Rを発現していることなどから、摂食調節と報酬系の密接な関連性が示唆される。

大麻の主成分のテトラヒドロカンナビノールの受容体であるカンナビノイド受容体は中枢神経系に広く発現分布し、生理的には内在性の脂質メデイエータであるエンドカンナビノイド (アナンダマイド、2-アラキドノイルグリセロールなど) をリガンドとする。エンドカンナビノイドのシグナルは記憶、ストレス応答、食欲など広汎な中枢神経機能を調節している。カンナビノイド受容体のサブタイプであるCB1受容体の遺伝子欠損マウスは高脂肪食による肥満を発症し難く、またCB1受容体拮抗薬はヒト肥満症患者において明らかな体重減少効果と肥満に伴う代謝異常 (インスリン抵抗性、脂質異常症、

脂肪肝) の改善作用を示す。副作用として生じるうつや不安などの精神症状の問題が解決されねばならないが、依存性薬物の研究から明らかとなったこれら新しい摂食調節因子は、抗肥満薬開発の標的として期待されている。



摂食調節異常による病態

■ 遺伝性肥満と二次性肥満

視床下部の空腹中枢や満腹中枢の発見に伴い、かつてFrölich症候群とよばれた、肥満と低ゴナドトロピン性性腺機能低下症の合併症例は視床下部満腹中枢の機能障害であることが明らかとなった。視床下部病変に起因する肥満を視床下部性肥満とよぶ。

レプチンや、 α -MSHなどのニューロペプチドの遺伝子の同定により、レプチン、レプチン受容体、POMC、4型メラノコルチン受容体 (melanocortin-4 receptor: MC4R) などのそれぞれ単独の遺伝子異常が、ヒトにおいて肥満をもたらすことが明らかとなった。単一遺伝子変異による肥満のうち、現在までに機序が解明されているもののほとんどすべてがレプチン、あるいはレプチンの下流のシグナル分子の遺伝子異常により生じている。とくにMC4Rの遺伝子異常は頻度が高く、肥満者の4%に変異を同定したとの報告もある。

Kallmann症候群 (嗅覚異常を伴う)、Prader-Willi症候群 (筋緊張低下、耐糖能異常、知能低下などを伴う)、Bardet-Biedl症候群 (網膜色素変性症、多指症、知能低下などを伴う) などの遺伝性肥満症候群の中には原因遺伝子が同定されているものもあるが、摂食異常がおきるメカニズムはほとんどが未解明である。レプチンシグナルとの関連性の観点からの研究がすすめられている。

二次性肥満の原因としてはCushing症候群などの内分泌疾患によるもの、薬剤性のも (とくに精神科領域の薬剤に多い) などがあり、臨床的、鑑別がきわめて重要である。

■ 食事性肥満とレプチン抵抗性

もっとも多いタイプの原発性肥満である食事性肥満の原因は、カロリー摂取量が、基礎代謝・活動量によるエネルギー消費を上回ることによるエネルギーバランスの不均衡と考えられている。なぜ肥満者においては、摂食量がエネルギー消費に見合うレ

ベルにまで抑制されないのかは、未解決の問題である。過食には社会的、経済的、行動心理学的背景があることも多い。食事性肥満の症例では通常、体脂肪量の増加に見合った高レプチン血症が認められるが、レプチンの摂食抑制作用が十分に発揮されず過食が是正されない。レプチンを肥満症例に投与した臨床研究においても体重減少効果は限定的であり、レプチン作用の減弱、すなわち「レプチン抵抗性」の存在が示唆される。レプチン抵抗性の機序の解明は、食事性肥満の病態理解と治療法の開発にとってきわめて重要な課題である。

3 やせ

癌や慢性炎症などの消耗性疾患においては、血中の tumor necrosis factor (TNF)- α 、interleukin (IL)-6、IL-1 β などの炎症性サイトカインの濃度が上昇している。これらがおもに視床下部メラノコルチン系 (α -MSH/MC4R シグナル伝達系) を活性化することにより食欲不振とエネルギー消費の亢進をもたらす。その結果として体重減少を生じると考えられ

ている。食欲増進、栄養状態の改善は原疾患の予後改善のためにも重要な因子であることから、副作用なく食欲を亢進させる治療法の開発が期待される。

神経性食思不振症は精神科領域の異常を伴う難治性疾患である。性腺機能障害や甲状腺機能異常など、視床下部性の神経内分泌機能異常をしばしば合併する。しかし、摂食中枢の機能異常としての本症の病態は十分に解明されたとはいえず、今後の課題である。

参考文献

- ・ Melmed S, et al. Williams Textbook of Endocrinology. 12th ed. Saunders, 2011
- ・ Hall JE, et al. Guyton & Hall Textbook of Medical Physiology. 11th ed, Elsevier- Saunders, 2006
- ・ Gardner D, et al. Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology 9th ed, McGraw-Hill Medical, 2011
- ・ Schwartz MW. Central nervous system regulation of food intake. Obesity 2006 ; 14(Suppl.) : 1S-8S

(田中智洋)

5 レプチンのトランスレーショナルサイエンス—レプチン実用化に向けて—

1) レプチンの発見—意義とその特徴

● はじめに

Friedmanらによる1994年のレプチンの発見¹⁾が、現代の内分泌代謝病学・肥満の医学にもたらしたものは主に表1の4つに集約されると考えることができる。

本項では、肥満研究の歴史のなかにおいてレプチンの発見を位置づけ、レプチン実用化に向けた基盤情報としてのこれまでの基礎研究の成果と、レプチンのトランスレーショナルリサーチに向けた将来展望について概説する。

1 肥満の医学史—疾病としての肥満

1) 古代・中世の肥満観

肥満が古代から人類に存在したことは、オーストリアのドナウ川近傍で発掘された石器の女神像 (Venus of Willendorf 24,000 ~ 22,000 B.C.) にみられる豊満な肢体²⁾、エジプト新王国時代(1,570 ~

1,070 B.C.)のファラオのミイラの皮下脂肪厚³⁾、あるいは中国やインドの古文書などから明らかとなっている⁴⁾。

医学的見地からの肥満の記載は、古代ギリシャのHippocrates (460? ~ 370? B.C.)の著作にすでに認められ、肥満が突然死のリスクとなること、肥満女性は月経異常や不妊症を伴うことが明瞭に記述されている⁵⁾。また古代ローマのGalen (129? ~ 200? A.D.)は生命にかかわる重症肥満に言及し、肥満治療の必要性和具体的方策としての、食餌制限、激しい運動、入浴を記載している⁶⁾。すなわち古代からすでにわれわれは、高度肥満の結果としての心血管イベントや内分泌異常をある程度において認識し、肥満が食事・運動療法により改善することを知っていたことがわかる。その後ヨーロッパ文明は中世を迎え、「摂生こそ肥満の治療」とする時代が長く続くこととなる。しかし肥満の原因は富裕者の飽食という認識のもとで、肥満治療の医学的必要性がどの程度認知されていたかは不明である⁷⁾。

表1 レプチンの発見が内分泌代謝病学・肥満の医学にもたらしたもの

- ①体脂肪量(肥満度)依存性に産生されエネルギー出納を制御するホルモンの存在を、その分子実体を明らかにすることにより証明した
- ②脂肪細胞が内分泌臓器としてホルモンを分泌することで個体の代謝を制御することを示し「脂肪細胞科学」を創始した
- ③レプチン・レプチンシグナル伝達系の遺伝子異常症発見の契機となり、新たな単一遺伝子変異による肥満症の同定と、発症メカニズムの解明をもたらした
- ④代謝異常症候群に対するレプチンの臨床応用の可能性をもたらした

2) 科学的考察の黎明

物理学の発展により熱量保存の法則が提唱されると、1700年代後半にはLavoisierやLaplaceらは「生命体における熱量保存の法則」として、摂取エネルギーと消費エネルギーはバランスを保って制御されていると主張した⁸⁾。しかし、このバランス制御を担う体内の器官はその後長らく不明であった。

肥満の病因論の観点から、エネルギーバランスの制御器官に関する知識が大きく前進したのは、1900年前後のことである。このころFröhlichや

Babinskiは高度肥満と性腺発育不全を呈する症例の剖検で視床下部に占拠性病変を見出したことを相次いで報告した(Babinski-Fröhlich症候群)⁷⁾。彼らは視床下部と下垂体の形態学的連続性に基づき、視床下部腫瘍による下垂体機能不全が肥満の原因と考えたが、Erdheimは視床下部組織の破壊が肥満の原因であると主張した⁸⁾。この論争は1940年代にラットの視床下部神経核の選択的破壊が可能となり、後者に軍配が上がる形で解決をみた⁹⁾。それ以来現在に至るまで実験動物における視床下部破壊は肥満の病因・病態、エネルギー代謝調節の生理学研究において極めて重要な位置を占めることとなる⁸⁾。視床下部、特に腹内側核の破壊は摂食量の増加とエネルギー消費の減少の両方の機序により再現性をもって動物個体に肥満を誘導する⁹⁾。一方、FröhlichやBabinskiと相前後してCushingは特徴的な体脂肪分布を示す肥満者に下垂体腫瘍が認められることを発見し(Cushing症候群)、臨床的見地から体脂肪蓄積調節における視床下部と下垂体の重要性を確立した¹⁰⁾。

これら臨床的発見は、肥満の少なくとも一部は「食生活上の不摂生」や「富裕者の証」などという社会経済的アイコンや美容上の問題ではなく、ある種の疾病の一徴候として発現するものであることを示したといえる。

2 “肥満遺伝子” 探索の時代へ

1) 肥満の遺伝学的背景

「肥満が“親譲り”である」ことの科学的裏付けは、一卵性双生児と二卵性双生児の比較、実子と養子の一致率の検討から1980年代に得られた。肥満の遺伝的一致率は統合失調症、アルコール依存症、動脈硬化症よりも高い¹¹⁾。また人口移動の少ないアイオワ州マスカティーン市の住民の遺伝子解析からは、体脂肪率の30～50%の間の差は比較的少ない数の遺伝子によって規定されていることが示唆された¹²⁾。

レプチン発見よりも前から、肥満を症候の一つとする遺伝性症候群はヒトでもげっ歯類でもいくつか知られており、部分的ながら遺伝学的解析も

なされていた。たとえば、ヒトで体幹部肥満、外性器の低形成、発達遅延を認めるPrader-Willi症候群の原因遺伝子は15q11-13に存在し、発症にはゲノムインプリンティングが関与することは1990年代初頭にすでにわかっていた¹³⁾。のちの解析により、Prader-Willi症候群発症には15q11-13に存在するsnoRNAの関与が示唆されているが¹⁴⁾、この遺伝子変異が肥満を惹起するメカニズムはいまだ謎に包まれている。また、肥満、網膜色素変性、多指症、学習障害、男性性腺機能低下、腎奇形を主徴とするBardet-Biedl症候群は古くから知られていたが、最近、BBS1～14など複数の染色体に存在する一見無関係の遺伝子群のいずれかの異常に起因することが明らかとなった。これらの一部はレプチンのシグナル伝達異常を引き起こす可能性が示唆されているが、その詳細は未解明である¹⁵⁾。

常染色体優性遺伝を示す肥満モデルマウスとしてはagouti yellow (*A^y*)が有名である¹⁶⁾。*A^y*/+マウスは、肥満、体長の伸長、黄色の体毛、乳腺・肝・膀胱腫瘍への感受性亢進を示す。*A^y*/+の脂肪組織や皮膚を野生型に移植すると表現型が消失することから、*A^y*/+における異常は細胞自律的なものではないことが予想され、中枢性の肥満発症機序が想定されていた。

2) 遺伝性肥満 *ob/ob*・*db/db* マウスの同定

1920年代にマウスの近交系交配による疾病モデル動物の開発と解析を目的に設立されたアメリカのジャクソン研究所には、1950年前後に世界中から多くの系統のマウスが集められた。その中にそれまでから知られていたagouti yellowをはるかに上回る劣性遺伝性の高度肥満と過食、インスリン抵抗性糖尿病、不妊を示すマウスが含まれており、このマウス系統は肥満(*obese*)に因んで*ob*と名付けられた¹⁷⁾。これに引き続いて同じく肥満、不妊とともに*ob*より重度の糖尿病を発症する系統が見つかり、糖尿病(*diabetes*)に因んで*db*と名付けられた¹⁸⁾。これらの系統のホモ接合体の肥満マウスはそれぞれ変異遺伝子座を*ob*ないし*db*と表記することにより*ob/ob*、*db/db*と記載される。*ob/ob*と*db/db*は同じマウス系統に戻し交配を行う

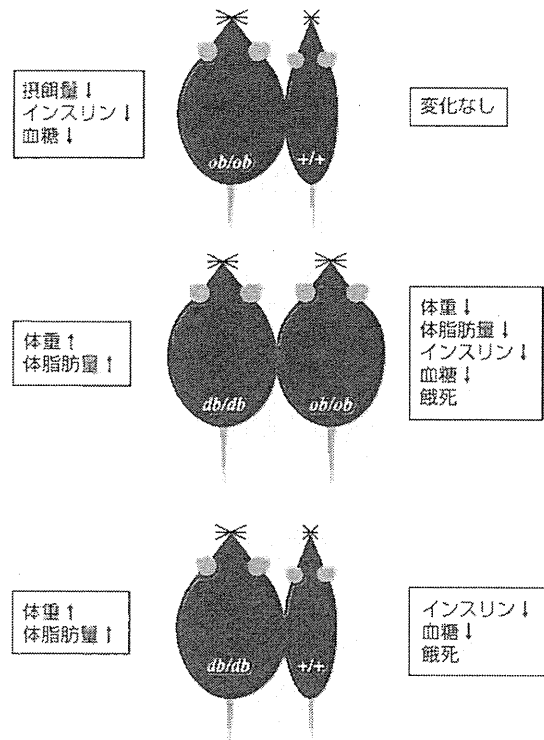
とほとんど同一とってよいほどに酷似した表現型を示す。そのため、はじめ *ob* と *db* は同一の遺伝子変異ではないかと考えられたが、これらの遺伝子座はそれぞれマウス第6、第4染色体にマッピングされ、異なる変異であることが示された。

ジャクソン研究所のColemanは *ob/ob* や *db/db* の血液中には何らかの特殊な代謝調節物質があるのではと考え、*ob/ob*、*db/db* と野生型マウス、*ob/ob* と *db/db* マウスなどの組み合わせで併体結合実験を行った。併体結合実験(parabiosis)とは、2匹のマウスの皮膚・皮下組織を縫い合わせることで、遺伝子型の異なる2匹のマウスの血液循環を相互に交通させる実験である¹⁹⁾。もし一方のマウスの血液中を循環する液性因子がそのマウスの表現型を規定しているならば、併体結合実験の結果、この表現型はもう片方のマウスにも出現するはずである。*ob/ob* と野生型の結合は *ob/ob* の過食を改善、*db/db* と野生型の結合は野生型の摂食を抑制して餓死させ、また *ob/ob* と *db/db* の結合では *ob/ob* が摂食抑制により餓死した²⁰⁾ (図1)。以上の結果から、Colemanは1978年に、満腹因子とこれに应答する満腹中枢の二者を仮定したうえで、*ob/ob* では血中を循環すべき満腹因子ができないため過食となって肥満を呈すのに対し、*db/db* では満腹因子は十分な量産生されるが、満腹中枢が正常に应答しないために同様の過食と肥満を発症するという説を提唱した²⁰⁾。この仮説は *ob/ob* や *db/db* の表現型をうまく説明できたが、満腹因子や満腹中枢の実体はその後長らく不明であった。

3) レプチンの発見

1) 遺伝子クローニングの成功

1986年、“肥満の臨床家・生理学者” Leibel と、“分子生物学者” Friedman は Coleman の満腹因子、すなわち *ob* 遺伝子の同定に向けた共同研究をスタートした。当時まだ黎明期にあったクローニング技術により、遺伝学的情報のみから変異遺伝子を同定するポジショナルクローニングは大事業であったことは想像にかたくない。1994年、Friedman らはついにマウスの6番染色体に *ob* 変異を同定



2) *ob/ob*, *db/db*, *+/+* マウス間の併体結合 (parabiosis) 実験の結果

(Coleman DL, et al.: Obese and Diabetes: two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice. Diabetologia 14: 141-148, 1978 を改変)

し、この遺伝子が167アミノ酸からなる蛋白をコードすると考えられることを明らかにした¹⁾。さらに、*ob* では105番目のアルギニンがストップコドンに変わるナンセンス変異が認められること、*ob* 遺伝子のホモログはヒトにも存在し、アミノ酸レベルでマウスと84%という高い相同性を認めること、また、この遺伝子由来のmRNAは脂肪組織に特異的に発現していることを報告した¹⁾。この遺伝子産物は $\lambda \epsilon \pi \tau \sigma$ (瘦せた) にちなんでレプチン (leptin) と名付けられた²¹⁾。

2) ホルモンとしてのレプチン

レプチンの発見は世界中の研究者に興奮をもたらし、続く数年間の研究の長足の進歩の起動力となった。レプチンは脂肪細胞から体脂肪量を反映した量が合成・分泌され、血中を循環し、視床下部や脳幹のレプチン受容体発現細胞を主たる標的

として作用することで、摂食抑制とエネルギー消費の亢進により動物個体を痩せさせる^{21,23}。さらに、*db*遺伝子がレプチン受容体をコードすることが明らかとなった^{24, 26}ことで、Colemanによる満腹因子-満腹中枢仮説の先見性が物質レベルにおいて証明された。

3) ヒト肥満の原因としてのレプチン・レプチンシグナル遺伝子異常の同定

レプチンの同定と前後して、時代は遺伝子クローニングの全盛時代となり、数年以内にはヒトのレプチン遺伝子異常症²⁶、レプチン受容体遺伝子異常症²⁷や下流のシグナル伝達にかかわる多くの因子の遺伝子異常症が次々と報告された。現在、単一遺伝子異常による肥満のうち、遺伝子産物の分子機能と肥満発症との間の関係が明確になっているものはほとんどがレプチンの情報伝達にかかわる遺伝子の変異である(図2)。ラットの肥満モデルである*fafa*がレプチン受容体の遺伝子変異であること²⁸、脂肪組織特異的に発現すると考えられたレプチンが胎盤からも産生されること²⁹など、レプチン発見のあと、数年以内に新しい知見が次々と報告された。

4) レプチン発見の生理学的意義

1) 長らく不明であった体脂肪量維持の分子メカニズム

健康なヒトを短期間の絶食や過食で痩せさせたり太らせたりしても、日頃の環境に戻すとまもなくほぼ試験開始前の体重に戻る。このことからレプチン発見より以前から、エネルギー制御中枢である視床下部には、体内のエネルギー貯蔵量を感じし、これを一定に保つ機能が存在することはすでに定説であった³⁰。しかし体内のエネルギー貯蔵量がいかなる機構で視床下部に伝達されるかは不明であった。Colemanはこれが*ob/ob*マウスに欠落し、*db/db*マウスの血中に過剰に存在する満腹因子だと考えた。ColemanやKennedyなど当時の研究者達は、はじめグルコースや脂質などの栄養物質や自律神経求心路を介した情報伝達経路を候補として考えたが、エネルギー情報の伝達経路

の同定には至らなかった。

2) エネルギー代謝恒常性におけるレプチンの役割

レプチンはまさにこのエネルギー代謝制御の“missing link”と考えられた。なぜならレプチンはエネルギー貯蔵庫である脂肪組織から分泌され、体脂肪量に比例した血中濃度を示し、視床下部の受容体を介してシグナルを伝達するという意味でColemanの満腹因子の条件を完全に満たしていたからである¹。エネルギー貯蔵庫に過ぎないと考えられていた脂肪細胞がホルモンを分泌することで個体の代謝制御を担う、という新しいパラダイムの出現は、脂肪細胞由来の分泌因子の探索競争をもたらし、アディポネクチンなどの多くの脂肪細胞由来生理活性物質(アディポサイトカイン)の発見へと繋がった³¹。しかし現在でもなお、レプチンがほかのアディポサイトカインと一線を画するのは、レプチンが、1783年にLavoisierやLaplaceが提唱した「動物個体のエネルギー保存則」成立の必要条件であることが証明されている唯一のアディポサイトカインであることである。欠損が*ob/ob*やヒトレプチン遺伝子異常症のような明確なエネルギーバランス破綻を惹起するアディポサイトカインはレプチンにおいてほかには見つかっていない。この意味において、エネルギー代謝の生理学へのレプチン発見の寄与は極めて大きい。

5) レプチンの臨床応用への展開

1) 食餌性肥満における「レプチン抵抗性」

げっ歯類へのレプチン投与は摂食活動を強力に抑制し³¹、褐色脂肪組織の脱共役蛋白(UCP)-1遺伝子発現の亢進³²や骨格筋AMPキナーゼの活性化³³により個体のエネルギー消費を増加させる。レプチン発見当初、げっ歯類での劇的な「やせ」効果の報告から、レプチンのヒト肥満治療薬としての有望性が世界中の注目的となった。しかし、肥満者を対象とし減量効果を評価すべく開始されたレプチン投与試験の結果は、一定の効果は得られたものの必ずしも芳しいものではなかった³⁴。

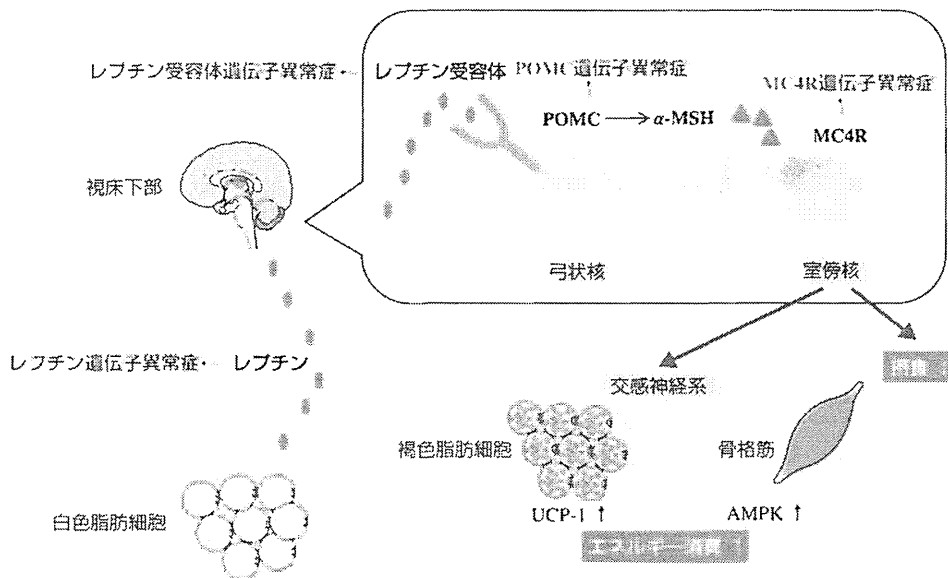


図4 レプチンのおもなシグナル伝達経路とその構成分子の遺伝子変異による肥満

白色脂肪組織から分泌されたレプチンは循環血漿中を介して視床下部弓状核のレプチン受容体発現細胞に作用する。弓状核レプチン受容体発現細胞の一部はプロオピオメラノコルチン(POMC)を産生し、前駆体であるPOMCが切断されて α -MSHが産生される。POMCニューロンの多くは視床下部内の室傍核のメラノコルチン4型受容体(MC4R)発現細胞に投射しており、 α -MSHがMC4Rに結合することにより、シグナルがさらに下流伝達される。レプチン、レプチン受容体、POMC、MC4Rの遺伝子変異(青字)はいずれも単独でヒト高度肥満を発症することが知られており、遺伝子欠損マウスも概ね同様の表現型を呈することから、ヒトおよびマウスの体脂肪量(adiposity)の制御におけるレプチンシグナル系の重要性が示唆される。レプチンシグナルにはNPY系等、ほかの経路も知られているが、本図では省略した(山中智洋, 他: 肥満の遺伝素因, 門脇孝, 他(編)カラー版糖尿病学—基礎と臨床, 西村書店, 453-459, 2007を改変)

マウスやラットにおいても、高脂肪食を与えることにより誘導した食餌性肥満モデルにおいては、血中レプチン濃度は肥満度を反映してすでに高値であり、このような病態にさらにレプチンを投与してもほとんど「やせ」させることはできない³⁵⁾。高脂肪食負荷ではレプチンによる骨格筋AMPキナーゼ活性化作用が減弱することはその一因と考えられる³⁶⁾。食餌性肥満における「レプチン抵抗性」のメカニズムについては多くの検討がなされているが^{37,39)}、その分子実体はいまだ不明である。

2) レプチンの適応疾患と適応拡大への期待

新しいホルモンの発見は血中濃度の測定による新しい疾病概念や病態の理解とともに、精製ないし遺伝子組換え体を用いたホルモン療法への展開に直ちに結びつく⁴⁰⁾。そしてホルモン療法が最も

劇的に効果を示すのは常に当該ホルモンが不足した病態である。実際、著しい低レプチン血症を示すレプチン遺伝子異常症の少年²⁶⁾に対して少量のレプチンを補償する治療が行われたところ、肥満や合併する糖脂質代謝異常は劇的な改善が認められた⁴¹⁾。レプチン遺伝子異常症のホモ接合体は非常にまれな病態であるが、ヘテロ接合体では血中レプチン濃度の軽度低下と体脂肪の軽度増加を示すことが知られており、レプチン補充治療の対象候補となりうると考えられる⁴²⁾。

先天性ないし後天性の機序で脂肪組織が欠失する脂肪萎縮症では主としてレプチン欠乏に起因するインスリン抵抗性の糖尿病や脂質代謝異常を呈する。レプチンには摂食抑制作用とは独立したインスリン感受性亢進作用があり、脂肪萎縮症の代謝異常に長期にわたって極めて有効で安全である^{43,44)}。脂肪萎縮症へのレプチンのトランスレー

ショナルリサーチについては他項で詳述される。

レプチンの臨床応用の展望としては現在すでに臨床試験が行われているものを含め3つの方向性が考えられる(表2)。

現時点では表2の①を中心に臨床応用への取り組みがなされている。

アミリンのように併用によりレプチン作用を増強するとされる薬剤やホルモンも明らかとなってきたが、必ずしもそのメカニズムは明らかではなく、抵抗性改善が相加作用かの峻別も明確ではない。レプチン抵抗性発症の分子機序の解明に立脚した、肥満症のレプチン治療法の開発が切望される。

●— おわりに

レプチンは動物個体のエネルギー貯蔵量を中枢神経系に伝達する、生理的に極めて重要な因子である。レプチンはまた性腺機能促進作用や骨代謝調節、血圧上昇など多彩な生理作用を有し、エネルギーバランスとこれら生理機能との調整の役割を担っている。

レプチンの絶対量やレプチン作用の欠乏がヒトの代謝異常症候群の病態基盤をなすことは多くのエビデンスからすでに明白であり、適切な対象疾患の選択と治療戦略の樹立さえ可能となれば数多くの内分泌代謝疾患・病態に対して極めて有効で

あるものと期待される。

(田中智洋)

参考文献

- Zhang Y, et al. : Positional cloning of the mouse obese gene and its human homolog. *Nature* 372 : 425-432, 1994
- Christopher LCE Witcombe. : Venus of Willendorf. art history resources, 2003 (<http://arthistoryresources.net/willendorf/willendorfdiscovery.html>)
- Michalopoulos A, et al. : Morbid obesity and hypersomnolence in several members of an ancient royal family. *Thorax* 58 : 281-282, 2003
- 宮崎 滋 : 肥満治療の歴史. *治療学* 41 : 111-116, 2007
- Bray GA : Obesity : historical development of scientific and cultural ideas. *Int J Obes* 14 : 909-926, 1990
- Hervey GR : Regulation of energy balance. *Nature* 222 : 629-631, 1969
- 藤原貫為, 他 : Babinski-Frolich 症候群. *日本臨牀(別) 新領域別症候群シリーズ 内分泌症候群(第2版)* 1 : 16-18, 2006
- Kennedy GC : Experimental hypothalamic obesity. *Proc R Soc Med* 44 : 899-902, 1951
- Brobeck JR : Mechanism of the development of obesity in animals with hypothalamic lesions. *Physiol Rev* 26 : 541-559, 1946
- Cushing HW : The basophil adenomas of the pituitary body and their clinical manifestations (pituitary basophilism). *Bull Johns Hopkins Hosp* 50 : 137-195, 1932
- Stunkard AJ, et al. : The body-mass index of twins who have been reared apart. *N Engl J Med* 322 : 1483-1487, 1990
- Moll PP, et al. : The genetic and environmental sources of body mass index variability : the Muscatine Ponderosity Family Study. *Am J Hum Genet* 49 : 1243-1255, 1991
- Nicholls RD, et al. : Genetic imprinting suggested by maternal heterodisomy in nondeletion Prader-Willi syndrome. *Nature* 342 : 281-285, 1989
- Cavaille J, et al. : Identification of brain-specific and imprinted small nucleolar RNA genes exhibiting an unusual genomic organization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97 : 14311-14316, 2000
- Davenport JR, et al. : Disruption of intraflagellar transport in adult mice leads to obesity and slow-onset cystic kidney disease. *Curr Biol* 17 : 1586-1594, 2007
- Wolff GL, et al. : Prenatal determination of obesity, tumor susceptibility, and coat color pattern in viable yellow (A^{vy/a}) mice. The yellow mouse syndrome. *J Hered* 77 : 151-158, 1986
- Ingalls AM, et al. : Obese, a new mutation in the house mouse. *J Hered* 41 : 317-318, 1950
- Hummel KP, et al. : Diabetes, a new mutation in the mouse. *Science* 153 : 1127-1128, 1966
- Rous P : Parabiosis as a test for circulating anti-bodies in cancer : first paper. *J Exp Med* 11 : 810-814, 1909
- Coleman DL, et al. : Obese and Diabetes : two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice. *Diabetologia* 14 : 141-148, 1978
- Halauz JL, et al. : Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 269 : 543-546, 1995
- Tartaglia LA, et al. : Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* 83 : 1263-1271, 1995
- Considine RV, et al. : Serum immunoreactive-leptin

レプチンの臨床応用の展望

①レプチン欠乏状態への補充治療

- ・脂肪萎縮症^{43,44)}
- ・1型糖尿病へのインスリン・レプチン併用療法⁴⁵⁾
- ・るい瘦に伴う視床下部性腺機能低下症⁴⁶⁾
- ・るい瘦に伴う骨代謝異常⁴⁷⁾
- ・体脂肪に比し相対的低レプチン血症を示すレプチン遺伝子異常症ヘテロ接合体症例⁴²⁾

②正常血中レプチン濃度を示すインスリン抵抗性症候群への応用

- ・2型糖尿病³⁹⁾
- ・インスリン受容体異常症 (Rabson-Mendenhall 症候群)⁴⁸⁾

③レプチン抵抗性を示す肥満症症例に対する治療

- ・食事制限等による減量の補助・維持⁴⁹⁾
- ・肥満患者に対するレプチンとアミリンの併用療法⁵⁰⁾

- concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 334 : 292-295, 1996
- 24) Lee GH, et al. : Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature* 379 : 632-635, 1996
- 25) Chen H, et al. : Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor : identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell* 84 : 491-495, 1996
- 26) Montague CT, et al. : Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature* 387 : 903-908, 1997
- 27) Clement K, et al. : A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature* 392 : 398-401, 1998
- 28) Takaya K, et al. : Nonsense mutation of leptin receptor in obese spontaneously hypertensive Koletsky rat. *Nat Genet* 14 : 130-131, 1996
- 29) Masuzaki H, et al. : Nonadipose tissue production of leptin : leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nat Med* 3 : 1029-1033, 1997
- 30) Keeseey RE : Physiological regulation of body weight and the issue of obesity. *Med Clin North Am* 73 : 15-27, 1989
- 31) Matsuzawa Y : The metabolic syndrome and adipocytokines. *FEBS Lett* 580 : 2917-2921, 2006
- 32) Satoh N, et al. : Satiety effect and sympathetic activation of leptin are mediated by hypothalamic melanocortin system. *Neurosci Lett* 249 : 107-110, 1998
- 33) Minokoshi Y, et al. : Leptin stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature* 415 : 339-343, 2002
- 34) Heymsfield SB, et al. : Recombinant leptin for weight loss in obese and lean adults : a randomized, controlled, dose-escalation trial. *JAMA* 282 : 1568-1575, 1999
- 35) El-Hashimi K, et al. : Two defects contribute to hypothalamic leptin resistance in mice with diet-induced obesity. *J Clin Invest* 105 : 1827-1832, 2000
- 36) Tanaka T, et al. : Skeletal muscle AMP-activated protein kinase phosphorylation parallel metabolic phenotype in leptin transgenic mice under dietary modification. *Diabetes* 54 : 2365-2374, 2005
- 37) Bjorbaek C, et al. : Identification of SOCS-3 as a potential mediator of central leptin resistance. *Mol Cell* 1 : 619-625, 1998
- 38) Tanaka T, et al. : Central melanocortin signaling restores skeletal muscle AMP-activated protein kinase phosphorylation in mice fed a high-fat diet. *Cell Metab* 5 : 395-402, 2007
- 39) Kusakabe T, et al. : Beneficial effects of leptin on glycaemic and lipid control in a mouse model of type2 diabetes with increased adiposity induced by streptozotocin and a high-fat diet. *Diabetologia* 52 : 675-683, 2009
- 40) Nakao K, et al. : Translational research of novel hormones : lessons from animal models and rare human diseases for common human diseases. *J Mol Med* 87 : 1029-1039, 2009
- 41) Farooqi IS, et al. : Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. *N Engl J Med* 341 : 879-884, 1999
- 42) Farooqi IS, et al. : Partial leptin deficiency and human adiposity. *Nature* 414 : 34-35, 2001
- 43) Ebihara K, et al. : Long-term leptin-replacement therapy for lipotrophic diabetes. *N Engl J Med* 351 : 615-616, 2004
- 44) Ebihara K, et al. : Efficacy and safety of leptin-replacement therapy and possible mechanisms of leptin actions in patients with generalized lipodystrophy. *J Clin Endocrinol Metab* 92 : 532-541, 2007
- 45) Miyanaga F, et al. : Leptin as an adjunct of insulin therapy in insulin-deficient diabetes. *Diabetologia* 46 : 1329-1337, 2003
- 46) Chou SH, et al. : Leptin is an effective treatment for hypothalamic amenorrhea. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108 : 6585-6590, 2011
- 47) Sienkiewicz E, et al. : Long-term metreleptin treatment increases bone mineral density and content at the lumbar spine of lean hypoleptinemic women. *Metabolism* 60 : 1211-1221, 2011
- 48) Cochran E, et al. : Efficacy of recombinant methionyl human leptin therapy for the extreme insulin resistance of the Rabson-Mendenhall syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 89 : 1548-1554, 2004
- 49) Rosenbaum M, et al. : Leptin reverses weight loss-induced changes in regional neural activity responses to visual food stimuli. *J Clin Invest* 118 : 2583-2591, 2008
- 50) Moon HS, et al. : Leptin and amylin act in an additive manner to activate overlapping signaling pathways in peripheral tissues : in vitro and ex vivo studies in humans. *Diabetes Care* 34 : 132-138, 2011

