

主論文の要約

**AgRP Neuron-Specific Deletion of Glucocorticoid Receptor
Leads to Increased Energy Expenditure and Decreased
Body Weight in Female Mice on a High-Fat Diet**

AgRPニューロン特異的グルココルチコイド受容体欠損マウスは
高脂肪食下の雌においてエネルギー消費を増大し、体重増加を抑制する

名古屋大学大学院医学系研究科 分子総合医学専攻
病態内科学講座 糖尿病・内分泌内科学分野

(指導：有馬 寛 教授)

柴田 みゆき

【緒言】

副腎皮質から分泌されるグルココルチコイド (F) はエネルギーバランスを調節する key hormone であり、過剰で肥満、欠乏で瘦をきたす。既報より F をラットの脳室内に投与すると摂餌量の増加およびエネルギー消費の減少をきたし体重は増加する。また、脳特異的にグルココルチコイド受容体 (GR) を欠損させたマウスは摂餌量の減少およびエネルギー消費の増加をきたし体重は減少する。このように、末梢から分泌された F が中枢に作用してエネルギーバランスを調節することは明示されたものの、脳内のどの領域で作用するかについては未だ明らかではない。

エネルギーバランスを調節する視床下部弓状核 (ARC) には AgRP および NPY ニューロンが存在し、摂食量の増加およびエネルギー支出の低下を介して体重増加作用を有する。我々は過去に F が ARC における AgRP や NPY の発現調節に重要であることを報告しており、F の標的として弓状核に限局して発現する AgRP ニューロンに着目した。

【対象および方法】

Cre-loxP システムを用いて AgRP ニューロン特異的に GR を欠損させたマウスを作成し、生後 3 週齢より普通食もしくは高脂肪食を投与してエネルギーバランスを評価し GR 欠損群 (KO) とコントロール群 (WT) で比較検討した。

【結果】

Cre-loxP による部位特異的組換えで生じた DNA バンドは KO の視床下部でのみ認め (Fig. 1 A)、レポーターマウスとの交配では KO においてのみ視床下部に RFP の発現を認めた (Fig. 1 B)。KO マウスでは AgRP ニューロンにおける GR の欠損率は 50% 程度であったが (Fig. 1 C, D)、ARC における NPY 細胞数は両群間で有意差を認めなかった (Fig. 1 E, F)。高脂肪食投与群 (HFD) では雌雄ともに 6 週齢以降 KO で WT と比較して有意な体重減少を認めた (Fig. 2 A, B)。普通食投与群 (ND) では雌において 11 週齢以降 KO で WT と比較して有意な体重減少を認めたが、雄では両群間に有意な体重差を認めなかった (Fig. 2 C, D)。HFD の雌 16 週齢において性腺周囲脂肪組織重量、体積および血清レプチン値は KO で WT と比較して有意な低下を認めたが (Fig. 2 E, H, I, K)、褐色脂肪組織 (BAT) 重量および皮下白色脂肪組織 (WAT) の体積は両群間で有意差を認めなかった (Fig. 2 G, J)。また体長は両群間で同等であり (Fig. 2 F)、体重差は体格に起因するものではないと考えられた。内臓脂肪重量減少の原因を調べる目的で摂餌量およびエネルギー支出を調べたところ、摂餌量は両群間で有意差を認めなかったが飼料効率 KO において WT と比較して有意な低下を認め (Fig. 3 A, B)、間接熱量測定法で酸素消費量および熱量を測定したところ KO において WT と比較して有意な増加を認めたことから (Fig. 3 C, D) エネルギー支出が KO で亢進していることが示唆された。一方、運動量は両群間で有意差を認めなかった (Fig. 3 E)。また、HFD の雌 6 および 16 週齢の BAT における UCP-1 の mRNA および蛋白発現は KO で有意な増加を認め (Fig. 4 A-D)、WAT において褐色化の指標である Prdm16、UCP-1 お

よび Cidea の mRNA 発現は HFD で KO において有意に増加した (Fig. 4 E-G)。ND の雌、HFD および ND の雄では摂餌量、飼料効率、酸素消費量、熱量、運動量および呼吸商に有意差を認めなかった (Suppl. Fig. 1-3)。16 週齢雌の AgRP mRNA 発現は ND において KO で WT と比較して有意な低下を認めたが (Fig. 5 A, C)、NPY mRNA 発現は両群間で有意差を認めなかった (Fig. 5 B, D)。AgRP および NPY の mRNA 発現は ND と比較すると HFD で WT および KO ともに有意な低下を認めたが、HFD において両群間でも有意差を認めなかった (Fig. 5 A-D)。一方、雄の AgRP mRNA 発現は雌の NPY mRNA 発現と同様であった (Suppl. Fig. 4)。体重差のない雌 6 週齢において 24 時間絶食後の摂餌量は両群間で有意差を認めず (Fig. 6 A)、絶食中及び再摂食後の体重も両群間で有意差を認めなかったが (Fig. 6 B)、絶食後の飼料効率及び ARC における AgRP mRNA 発現は KO において WT と比較して有意に低下した (Fig. 6 C, D)。さらに、ブドウ糖負荷試験 (GTT) およびインスリン負荷試験 (ITT) を施行したところ、両試験とも WT と KO で有意差を認めなかった (Fig. 7 A, B)。また、レプチン投与後の摂餌量および体重は両群間で有意差を認めず (Suppl. Fig. 6 A, B)、ARC における Stat3 のリン酸化も有意差を認めなかった (Suppl. Fig. 6 C, D)。HFD の 16 週齢において随時血糖値は雌雄とも両群間で有意差を認めなかったが、血清インスリン値は KO で有意に低かった (Fig. 7C, D, Suppl. Fig. 5)。

【考察】

本研究において我々は AgRP ニューロン特異的 GR 欠損マウスを作成し、雌雄ともに HFD において体重増加が抑制されることを示した。体重増加抑制の理由として KO における有意なエネルギー消費の増加が考えられた。こうしたエネルギー消費の増加は、KO において BAT の UCP-1 発現の増加や WAT の褐色化に加え、HFD において内臓脂肪が有意に減少しているにもかかわらず AgRP mRNA 発現が増強しないことや絶食後において AgRP の mRNA 発現が低下することに起因するものと考えられた。以上から HFD において AgRP/NPY ニューロンの GR シグナルはエネルギー消費の低下を介して体重を増加させることが示唆された。

本研究において雄より雌で体重減少が強く認められた理由は明らかではないが、エストロゲン (E) は BAT を活性化する報告や、F は E シグナルを阻害する報告があり、AgRP/NPY ニューロンにおいて GR シグナルが欠損したことで E シグナルが増強され、雌でより強い表現型を呈した可能性が考えられた。

我々は以前に視床下部器官培養で F が AgRP/NPY の発現を刺激し、その反応は NPY に比べて AgRP で強いことを示した。本研究では ND において KO では WT と比較して AgRP の発現が有意に低下していたが、NPY 発現は変わらなかった。これは 2 つのニューロンの F による感受性の違いを表していると考えられる。

AgRP ニューロンは体重差とは独立して末梢のインスリン感受性を調節することが報告されているが、本研究では 6 週齢において GTT および ITT は両群間で有意差を認めず、16 週齢で認められた KO の糖代謝改善は体重差から生じた二次的な変化の結果

と考えられた。さらにレプチン投与後の摂餌量、体重及び Stat3 のリン酸化は WT と KO で有意差はなく、KO における体重減少はレプチンシグナルとは独立したものであることが示唆された。

【結語】

HFD 投与下において AgRP ニューロンの GR シグナルはエネルギー消費を減少させることで体重増加に寄与することが示唆された。