

主要論文の要旨

**Deficiency of PTP1B Attenuates Hypothalamic  
Inflammation via Activation of the JAK2-STAT3  
Pathway in Microglia**

〔 PTP1B 欠損下ではミクログリアの JAK2-STAT3 経路を介して  
視床下部炎症は減弱する 〕

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)

恒川 卓

## 【緒言】

視床下部はエネルギーバランスの調節において重要な役割を担うことが知られているが、高脂肪食の摂取は末梢組織のみならず視床下部にも炎症を引き起こして視床下部の機能を障害し、摂食量やエネルギー消費の調節機構に異常をきたすことで肥満の起点となることが報告されている。また近年、視床下部のグリア細胞が高脂肪食に伴う視床下部炎症に関与していると報告されているが詳細な機序については解明されていない。

Protein tyrosine phosphatase-1B (PTP1B) はニューロンにおけるレプチン受容体下流の JAK2-STAT3 経路を阻害する酵素で、高脂肪食投与下において視床下部での発現が増強し、全身もしくは脳で PTP1B を欠損させると肥満抵抗性を呈する。PTP1B は炎症の調節因子であることが報告されているが、高脂肪食に伴う視床下部炎症における役割は未解明であり本研究において検討した。

## 【方法】

雄性野生型マウス (WT) および PTP1B 欠損マウス (KO) に 3 週齢の離乳時より高脂肪食を投与し、両群間で体重差のない 7 週齢で視床下部弓状核における炎症関連サイトカインの発現、STAT3 のリン酸化およびその局在を検討した。WT および KO に TNF $\alpha$  を脳室内投与 あるいはレプチンを腹腔内投与し、視床下部弓状核における STAT3 リン酸化およびその局在を検討した。WT および KO を用いて視床下部器官培養を行い、TNF $\alpha$  刺激下での炎症関連サイトカインの mRNA 発現およびシグナル蛋白のリン酸化を検討した。WT を用いた視床下部器官培養において TNF $\alpha$  投与もしくは TNF $\alpha$  とレプチン同時投与を行い、レプチンが視床下部炎症に及ぼす影響について検討した。

## 【結果】

高脂肪食投与下での 7 週齢において体重、精巣上体周囲白色脂肪重量および血清 TNF $\alpha$  濃度は両群間で差を認めなかったが (Fig. 1a-c)、KO では WT と比較して視床下部弓状核における TNF $\alpha$  の mRNA および蛋白発現が減弱し IL-10 の mRNA 発現が増強した (Fig. 1d, e, g)。一方、IL-6 および IL-1 $\beta$  の mRNA 発現には差を認めなかった (Fig. 1f, Supplementary Fig. b)。また高脂肪食投与下の WT において PTP1B がミクログリア、アストロサイトおよびニューロンに局在することを確認した (Supplementary Fig. a)。高脂肪食投与下において視床下部弓状核の STAT3 のリン酸化は両群間で差を認めなかったが (Fig. 1h, j)、視床下部弓状核のミクログリアおよびアストロサイトにおける STAT3 のリン酸化は WT と比較して KO で亢進していた (Fig. 1i, k, Supplementary Fig. c, e)。一方ニューロンにおける STAT3 のリン酸化は両群間で差を認めなかった (Supplementary Fig. 1d, f)。TNF $\alpha$  脳室内投与下において KO では WT と比較して視床下部弓状核の STAT3 のリン酸化の亢進を認め (Fig. 2a, c)、ミクログリアにおいても亢進を認めたがアストロサイトおよびニューロンにおい

では両群間で差を認めなかった (Fig. 2b, d-f)。レプチン腹腔内投与下において KO では WT と比較して視床下部弓状核の STAT3 のリン酸化の亢進を認めた (Fig. 3a, c)。レプチンの投与によりアストロサイトとニューロンにおいて STAT3 のリン酸化亢進を認めた (Fig. 3e, f) もの、ミクログリアにおいては両群ともに STAT3 のリン酸化を誘導しなかった (Fig. 3b, d)。

視床下部器官培養では TNF $\alpha$  刺激下において KO は WT と比較して TNF $\alpha$  および IL-1 $\beta$  の mRNA 発現は減弱し、IL-10 の mRNA 発現、JAK2 および STAT3 のリン酸化が増強した (Fig. 4a-d, g-j)。一方 IL-6 の mRNA 発現と NF $\kappa$ Bp65、p38、JNK および ERK のリン酸化は両群間で差を認めなかった (Fig. 4e, f, k-n)。2 種類の STAT3 リン酸化阻害剤 (JSI-124、S31-201) を用いた所、TNF $\alpha$  刺激下における両群間のサイトカイン発現の差は消失した (Fig. 5)。また視床下部器官培養においてミクログリア除去剤 (liposomal clodronate) を用いてミクログリアのみを除去したところ (Fig. 6a)、TNF $\alpha$  刺激下でのサイトカイン発現は減弱し、WT と KO 間のサイトカイン発現の差は消失した (Fig. 6b, c)。レプチンは WT マウスにおいて STAT3 のリン酸化を増強させたが、TNF $\alpha$ 、IL-10 および IL1 $\beta$  の mRNA 発現には影響を与えなかった (Fig. 7)。

### 【考察】

本研究において PTP1B 欠損下では高脂肪食投与による視床下部炎症が体重差とは独立して減弱することが示された。視床下部弓状核の組織学的検討を行ったところ、KO では高脂肪食もしくは TNF $\alpha$  投与時にミクログリアにおける STAT3 リン酸化の有意な亢進が認められた。また視床下部器官培養での TNF $\alpha$  投与時にも KO で炎症の減弱および JAK2-STAT3 経路の亢進を認めたが STAT3 リン酸化阻害剤もしくはミクログリア除去剤を投与すると WT と KO 間の差が消失した。さらにアストロサイトおよびニューロンの STAT3 リン酸化を亢進させるレプチンは視床下部器官培養において視床下部炎症に影響を与えなかった。以上の結果より PTP1B 欠損下ではミクログリアにおける JAK2-STAT3 経路の亢進により視床下部炎症が減弱することが示された。

PTP1B は視床下部ニューロンにおいて JAK2 を基質とし脱リン酸化することでレプチン受容体下流の JAK2-STAT3 経路を阻害すると報告されているが、本研究において視床下部ミクログリアにおける TNF $\alpha$  受容体下流の JAK2-STAT3 経路も阻害することが示唆された。一方、TNF $\alpha$  受容体下流の NF $\kappa$ Bp65、p38、JNK および ERK は PTP1B の基質でないため影響を与えないと考えられた。また末梢組織では PTP1B 欠損下では活性化された STAT3 は二量体を形成し、核内移行することで TNF $\alpha$  の発現を増強および IL-10 の発現を減弱し、炎症を抑制すると報告されているが、本研究においても PTP1B 欠損下では STAT3 リン酸化の亢進を認め同様の機序にて視床下部炎症を減弱することが示唆された。

本研究において、高脂肪食投与時に増加する TNF $\alpha$  以外のサイトカインの影響および様々なシグナル蛋白の影響については検討されていない。またミクログリアだけで

なく、アストロサイトおよびニューロンそれぞれから分泌されるサイトカインや、互いの相互作用については検討されておらず、これらについては更なる検討が必要と考えられる。

**【結語】**

PTP1B 欠損下ではミクログリアにおける JAK2-STAT3 経路の亢進により高脂肪食投与による視床下部炎症が減弱することが示唆された。