

## 主論文の要旨

### **PTP1B deficiency improves hypothalamic insulin sensitivity resulting in the attenuation of *AgRP* mRNA expression under high-fat diet conditions**

（PTP1B 欠損下では高脂肪食投与下において視床下部におけるインスリン抵抗性を改善し *AgRP* mRNA 発現が低下する）

名古屋大学大学院医学系研究科 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）

杉山 摩利子

## 【緒言】

インスリンは中枢に発現しているインスリン受容体を介してエネルギーバランスを負に調節しており、脳特異的にインスリン受容体を欠損させると肥満を呈する。視床下部弓状核に発現する Agouti-related protein (AgRP) ニューロンは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。これまでに、インスリンは AgRP ニューロンの活性を抑制することが報告されている。

Protein tyrosine phosphatase-1B (PTP1B) は全身に広く発現している酵素で、チロシンの脱リン酸化を介して多岐に渡るシグナルに関与しており、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。末梢においてはインスリン受容体およびインスリン受容体基質のチロシンを脱リン酸化することでインスリンシグナルを阻害することが報告されているが、中枢のインスリンシグナル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 PTP1B 欠損 (KO) および野生型 (WT) マウスに離乳時より普通食もしくは高脂肪食を投与した。7 週齢のマウスにインスリンを 10 mU/gBW 腹腔内投与し投与後 15 分でマウスを淘汰し、視床下部弓状核における IR $\beta$  および Akt のリン酸化をウエスタンブロット法で評価し両群間で比較検討した。4 週齢の高脂肪食投与群のマウスを fed の状態で採血後に淘汰し、血糖、血清インスリン値および摂食関連ペプチドの mRNA 発現を評価し両群間で比較検討を行った。

生後 16 日の PTP1B 欠損 (KO) および野生型 (WT) マウスを用いて視床下部器官培養を行い、インスリンを 10<sup>-7</sup> M 投与し IR $\beta$  および Akt のリン酸化を評価した。また、摂食関連ペプチドの mRNA 発現を評価し両群間で比較検討した。更に、PI3K 阻害剤 (wortmannin) を投与して同様に評価した。

## 【結果】

WT マウスにおいてインスリンを腹腔内投与すると視床下部弓状核において濃度依存的に IR $\beta$  および Akt のリン酸化が増強することを確認した (Fig.1A,B)。WT マウスにおいて普通食および高脂肪食投与下でコントロール群と比較してインスリン投与群では IR $\beta$  の有意なリン酸化を認めたが、高脂肪食投与下における IR $\beta$  のリン酸化は普通食投与群と比較して有意に減弱した (Fig.1C)。また Akt のリン酸化増強は普通食投与下において認められたが高脂肪食投与下では認めなかった (Fig.1D)。一方、KO マウスでは普通食、高脂肪食投与下においてコントロールと比較してインスリン投与群で有意な IR $\beta$  および Akt のリン酸化増強を認め、普通食と高脂肪食投与間でリン酸化に有意差を認めなかった (Fig.1E,F)。4 週齢のマウスを fed の状態で評価したところ、体重、血糖値は両群間で差を認めず (Fig. 2A,B)、血清インスリン値および AgRP mRNA 発現は KO マウスで有意な減弱を認めた (Fig.2C,D)。NPY および POMC の mRNA 発現については両群間で有意差を認めなかった (Fig.2E,F)。

視床下部器官培養では、インスリン投与により KO マウスで WT マウスと比較して IR $\beta$  および Akt の有意なリン酸化の増強 (Fig. 3A,B) に加え AgRP mRNA 発現の有意な減少を認めたが、NPY および POMC の mRNA 発現は両群間で有意差を認めなかった (Fig. 3C-E)。PI3K 阻害剤 (wortmannin) の投与により、両群間で認められた IR $\beta$  と Akt のリン酸化および AgRP mRNA 発現の有意差は消失した (Fig. 4A-D)。

### 【考察】

本研究において高脂肪食投与により視床下部弓状核において生じたインスリン抵抗性が PTP1B 欠損下において改善することが示された。また視床下部器官培養においてインスリンを投与すると PTP1B 欠損下では PI3K-Akt 経路を介して AgRP mRNA 発現が減弱することが確認された。これらの結果から、(1) PTP1B が高脂肪食投与に伴う視床下部弓状核のインスリン抵抗性に関与すること、(2) PTP1B は末梢のみならず視床下部においてもインスリンシグナルを阻害すること、(3) インスリンによる視床下部 AgRP mRNA 発現の調節に PTP1B が関与することが示唆された。

これまでに AgRP ニューロン特異的にインスリン受容体を欠損させたマウスでは AgRP mRNA 発現が増加するものの、POMC ニューロン特異的にインスリン受容体を欠損させたマウスでは POMC mRNA 発現に変化を認めなかった報告がある。また、PTP1B 欠損下では AgRP ニューロンにおけるインスリンシグナルを増強しても POMC ニューロンにおけるインスリンシグナルは増強しないという報告があり、これらの既報に加え本研究で得られた結果から、PTP1B は視床下部弓状核の AgRP ニューロンにおけるインスリンシグナルの調節に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。また、4 週齢の KO マウスにおいて WT マウスと比較して AgRP mRNA 発現の有意な低下を認めたが、これは脳特異的に PTP1B を欠損させたマウスの既報と同様の結果であった。さらに、生理学的な条件を両群間で揃えた視床下部器官培養においても KO マウスにおいてインスリンを投与するとコントロールと比較して AgRP mRNA 発現の減弱を認め、NPY および POMC では mRNA の発現に有意差を認めなかった。インスリンによる AgRP mRNA の発現減弱が PI3K 阻害剤投与により消失したことから、PTP1B はインスリンシグナルにおいて末梢と同様に PI3K より上流で作用していることが示された。これまでに、AgRP mRNA の発現は FoxO-1 によって正に調整されること、リン酸化された Akt は FoxO-1 をリン酸化することで FoxO-1 の活性を下げ AgRP mRNA の発現を減弱することが報告されており、KO マウスではインスリン受容体下流の PI3K-Akt 経路を増強することにより FoxO-1 の不活化を介して AgRP mRNA 発現の減弱をきたすことが示唆され、こうした AgRP mRNA 発現の低下が PTP1B 欠損マウスの特徴である高脂肪食投与に対する肥満抵抗性に寄与している可能性が考えられる。

### 【結語】

PTP1B 欠損下では高脂肪食投与下において視床下部におけるインスリン抵抗性を改善し、AgRP mRNA 発現が低下する。