

氏名(本籍) 永井義夫(滋賀県)
学位の種類 博士(医学)
学位記番号 博士第409号
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日 平成14年3月25日
学位論文題目 Amelioration of high fructose-induced metabolic derangements by activation of PPAR- α
(高果糖食にて誘導される代謝失調のPPAR- α 活性化による是正)

審査委員 主査 教授 佐伯行一
副査 教授 新井良八
副査 教授 犬伏俊郎

論文内容の要旨

【目的】

高脂血症、インスリン抵抗性、耐糖能異常、高血圧等を併せ持つ状態はインスリン抵抗性症候群と呼ばれ、動脈硬化の危険因子が集積した病態として臨床的に重要視されている。食事性のインスリン抵抗性症候群モデルとして高果糖食ラットモデルが知られているがその発症機構は不明である。そこでこの高果糖食ラットを用い、脂肪酸合成を制御する転写因子、sterol regulatory element binding protein (SREBP)-1とその標的遺伝子、及び脂肪酸酸化を調節する転写因子 peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)- α とその標的遺伝子の発現について検討した。更にPPAR- α の活性化リガンドであるフェノフィブラート投与による肝脂質代謝及びインスリン抵抗性症候群の改善効果及び、肝ミトコンドリアDNAのコピー数、呼吸鎖遺伝子、Uncoupling protein(UCP)の発現についても検討した。

【方法】

SDラットを、通常食(N群)、通常食+30mg/kgフェノフィブラート(NF群)、果糖65%含有食(F群)、F食+30mg/kgフェノフィブラート(FF群)に分け8週間飼育した後、血液、肝、骨格筋、脂肪組織を採取した。mRNA発現はNorthern blot法にて、タンパク発現はWestern-blot法にて、ミトコンドリアDNAコピー数は定量的Southern blot法にて解析した。インスリン抵抗性はSteady State Plasma Glucose (SSPG)法を用いた。SREBP-1の標的遺伝子としてはfatty acid synthase (FAS)、Acetyl-CoA carboxylase (ACC)を、PPAR- α の標的遺伝子としてはcarnitine palmitoyltransferase-1 (CPT-1)、acyl-CoA oxidase (ACO)を検討した。また、肝に対する果糖の直接作用を検討するため、ラット初代培養肝細胞を用いた実験も併せて行った。

【結果】

1. 高果糖食群で認められた高脂血症、インスリン抵抗性、高血圧、脂肪肝はフェノフィブラート投与によりすべて有意に改善した。
2. 高果糖食によりPPAR- α のmRNA、タンパク発現及び活性、またその標的遺伝子である脂肪酸酸化系酵素のmRNA発現が有意に低下した。一方、SREBP-1およびその標的遺伝子である脂肪酸合成系酵素の遺伝子発現は有意に上昇した。
3. ラット初代培養肝細胞でも培養液中の果糖濃度を増加することにより同様の効果が認められた。
4. 高果糖食により低下したPPAR- α のタンパク発現及び活性は、そのリガンドであるフェノフィブラート投与により有意に改善した。
5. 肝ミトコンドリアDNAのコピー数はFF群で約10倍に増加しており、ミトコンドリア由来遺伝子であるATP-ase 6の発現も同様にFF群で最も上昇した。
6. これまで未発現と報告されていた肝臓UCP-3の発現がFF群において著しく上昇したが、UCP-2の同様な発現の上昇は認められなかった。

7. フェノフィブラート投与により骨格筋UCP-3の発現は肝臓と同じく上昇したが、脂肪細胞では同様の変化は認められなかった。

【考 察】

果糖食ラットの肝において、SREBP-1とその標的遺伝子の発現が上昇し、PPAR- α とその標的遺伝子の発現が低下したことから、脂肪酸の合成亢進と分解低下が同時に起こっていると考えられた。その効果はラット初代培養肝細胞の結果より、果糖の直接作用であることが証明された。その結果脂肪肝が生じ、VLDL分泌亢進により高中性脂肪血症ならびに肥満、ひいてはインスリン抵抗性症候群が引き起こされていると考えられた。PPAR- α のリガンドであるフェノフィブラート投与は、PPAR- α のタンパク発現及び、 β -酸化を制御する酵素の発現を上昇させたが、SREBP-1とその標的遺伝子発現には影響を与えなかった。このことからフェノフィブラートは分解の亢進を介して脂肪酸代謝を調節していると考えられた。フェノフィブラート投与によるPPAR- α の活性化と一致して、ミトコンドリアでの呼吸鎖を構成する遺伝子の発現、DNA量、さらにはUCP-3発現が増加しており、 β -酸化の亢進のみならず、ミトコンドリアでのエネルギー消費をも増加させていることが示唆された。

【結 論】

果糖負荷によりラットの肝における脂肪合成亢進ならびに分解低下が認められ、インスリン抵抗性症候群の病態を呈していた。フェノフィブラート投与により脂肪分解が亢進し、上記異常がすべて有意に改善した。さらにフェノフィブラートは β -酸化の亢進のみならず、ミトコンドリア呼吸鎖遺伝子およびUCP-3発現を亢進した。

論文審査の結果の要旨

本研究は、高果糖食を与えて作成したインスリン抵抗性症候群モデルラットにおける代謝失調を肝臓での脂肪の合成と分解に的を絞り生化学の実験手技を用いて解析を行ったものである。

その結果、高果糖食により、脂肪酸合成を制御する転写因子sterol regulatory element binding protein-1 (SREBP-1) 及びその標的遺伝子の発現が亢進し、脂肪酸酸化を調節する転写因子peroxisome proliferator-activated receptor- α (PPAR- α) 及びその標的遺伝子の発現が低下する。さらに、PPAR- α のリガンドであるフェノフィブラートの同時投与により代謝失調が改善されるが、その機序は脂肪分解系の亢進と肝ミトコンドリアのエネルギー消費の上昇に因る事を明らかにしている。なお、同時投与が肝臓において骨格筋型Uncoupling protein-3 (UCP-3) の著名な発現を引き起こすという興味ある現象を見出している。

これらの成果は、インスリン抵抗性症候群の理解と改善、フェノフィブラートの作用機構の解明に大きく寄与し得る極めて優れたものである。

よって、博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。