

## 論文内容の要旨

論文提出者氏名 森元 英周

### 論文題目

Angiotensin 1-7 stimulates brown adipose tissue and reduces diet-induced obesity

### 論文内容の要旨

褐色脂肪組織 (brown adipose tissue, BAT) は、脂肪酸や糖の代謝による非震え熱産生を行う臓器で、肥満治療の標的臓器として注目を集めている。一方、レニン-アンジオテンシン系 (renin-angiotensin system, RAS) は代謝調節や脂肪組織の制御において重要な役割を果たすことが明らかとなってきたが、Angiotensin1-7 (Ang1-7) は RAS を構成するペプチドの一つで、angiotensinII (AngII) や angiotensin1-10 より生成される。Ang1-7 は脂肪細胞の炎症を軽減する作用、グルコース恒常性や心機能の改善作用などが報告されており、肥満に対する有望な治療法として期待されている。今回我々は、Ang1-7 の抗肥満効果に BAT が関与しているという仮説の下、そのメカニズムを検証した。

4週齢、雄の C57BL/6J マウスを普通食 (Normal Chow, NC; 脂肪比率 12%) 投与群と高脂肪食 (High-fat diet, HFD; 脂肪比率 56.7%) 投与群に分け 4 週間飼育した後、さらに各群を Ang1-7 投与群と非投与群に分け 4 週間飼育した。Ang1-7 は皮下に埋め込んだ浸透圧ポンプより持続的に投与した。体重と食事摂取量の測定は 1 週間に 2 回行い、12 週齢時に腹腔内ブドウ糖負荷試験 (IPGTT)、呼気ガス分析装置による酸素消費量測定、サーモグラフィーによる肩甲骨周囲の体表温度測定、4℃ 寒冷刺激下での直腸温測定を行った。また、血糖、血漿遊離脂肪酸、血漿コレステロールを測定した。安楽死の後、肩甲骨間の褐色脂肪 (interscapular BAT, iBAT)、皮下白色脂肪 (subcutaneous white adipose tissue, sWAT) 等臓器検体を採取し重量測定後に -80℃ で保存した。iBAT 及び sWAT を使用し目的とする mRNA およびタンパク質の発現量を測定した。iBAT, sWAT ではヘマトキシリン・エオジン染色標本にて脂肪滴の大きさの比較も行った。

HFD 飼育マウスにおいて Ang1-7 の投与により、摂取カロリーの差を認めることなく、体重と白色脂肪量は有意に低下した。また、HFD 飼育マウスでは酸素消費量は明期、暗期ともに Ang1-7 投与により有意な増加を認めた。そこで、エネルギー消費臓器である BAT の活性を確かめるため、肩甲骨周囲の体表温を測定したが Ang1-7 投与による変化は認めなかった。次に、BAT が活性化した状態での熱産生を評価するために 4℃ の寒冷刺激下で経時的に直腸温を測定したところ、HFD 飼育マウスは NC 飼育マウスに比べ有意に体温が高く、さらに、HFD 飼育マウスでは Ang1-7 投与により有意な直腸温の上昇を認め、熱産生が増加していることがわかった。この結果と一致するように BAT での熱産生に関わる Uncoupling protein 1 (UCP1) や、UCP1 発現の刺激に関わる  $\beta$  3 adrenergic receptor と protein

kinase A (PKA) の mRNA や p38MAPkinase 蛋白の発現は HFD 飼育マウスにおいて Ang1-7 投与により有意な増加を示しており、BAT における熱産生経路が活性化されていることが分かった。さらに興味深いことに Ang1-7 の投与により BAT の重量は有意な増加を示した。そこで、BAT の分化・増殖に関わる PRD1-BF1-RIZ1 homologous domain containing 16 (PRDM16) 蛋白の発現や AMP-activated protein kinase  $\alpha$  (AMPK  $\alpha$ )、mammalian target of rapamycin (mTOR)、p44/42 mitogen-activated protein kinases (Erk1/2) のリン酸化を調べたところ、いずれも Ang1-7 の投与により有意な増加を認めた。また、ミトコンドリアに存在する prohibitin の発現も増加しており、BAT の分化や増殖が活性化していることが明らかとなった。

HFD 飼育マウスの BAT の組織像では、脂肪滴の大きさは Ang1-7 の投与により有意な縮小傾向を認め、脂肪分解に関わる hormone-sensitive lipase (HSL) のリン酸化は有意な増加を認めた。また、IPGTT では耐糖能の改善を認め、BAT における Akt のリン酸化や phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) 蛋白の発現も増加しておりインスリンシグナルの改善が明らかとなった。白色脂肪細胞の褐色脂肪細胞様変化であるベージュ化もまた、BAT と同様に熱産生に関わるため、sWAT についても検討を行った。HFD 飼育マウスにおいて、Ang1-7 投与により有意な脂肪細胞の縮小と重量および血漿遊離脂肪酸の減少を認めた。しかし、ベージュ化のマーカーとなる UCP1 の発現増加は認めず、Ang1-7 はベージュ化を誘導しないことが明らかとなった。

今回の研究で我々は、Ang1-7 が褐色脂肪細胞の分化・増殖を誘導すること、BAT において HSL を活性化し脂肪滴を減少させインスリンシグナルを改善すること、sWAT のベージュ化を引き起こすことなく BAT の活性化を介した熱産生を増加させることを新たに発見した。今回の研究により、Ang1-7 は、BAT による非震え熱産生を増加することにより肥満とその合併症を改善する有望な治療薬となりうることが示された。