

Gold thioglucose誘発肥満，インスリン抵抗性マウスにおける脱共役蛋白質遺伝子発現の検討

著者	今牧 啓二
雑誌名	埼玉医科大学雑誌
巻	28
号	4
ページ	165-170
発行年	2001-10-25
URL	http://id.nii.ac.jp/1386/00000462/



原 著

Gold thioglucose誘発肥満, インスリン抵抗性マウスにおける
脱共役蛋白質遺伝子発現の検討

今牧 啓二

Expression of UCPs in Obese and Insulin Resistant Mice Induced by Gold Thioglucose

Keiji Imamaki (Fourth Department of Internal Medicine, Saitama Medical School, Moroyama, Iruma-gun, Saitama 350-0495, Japan)

Both uncoupling proteins, UCP2 and UCP3, show high homologies to UCP1, a mitochondrial carrier protein, which has been shown to play a role in the regulation of energy metabolism. UCP3 gene is expressed abundantly in the skeletal muscles while UCP2 gene is expressed in the white adipose cells in various tissues of the body. Based on their homologies to UCP1, UCP2 and UCP3 are believed to be involved in the regulation of energy balance. In this paper, we examined whether the expression of UCP2 and UCP3 is affected in obese and hyperglycemic mice, since obesity is associated with disturbed energy and glucose metabolism. We generated obese and hyperglycemic mice by using gold thioglucose (GTG) at the age of 6 weeks. Body weight were significantly increased at the age of 11, 16 and 26 weeks in GTG mice in comparison with control mice. Plasma glucose and insulin levels of GTG mice at the age of 11 weeks increased more than those of control mice. Pancreatic beta cell mass also increased significantly in GTG mice at the age of 16 weeks. We found that UCP2 mRNA levels in skeletal muscle of GTG mice were higher than those of control mice by 5.2-fold (16 weeks) and 2.9-fold (26 weeks), respectively. We also found that UCP3 mRNA levels in the skeletal muscle of GTG mice were higher than those of control mice by 2.7-fold (16 weeks) and 2.3-fold (26 weeks), respectively. Thus, the present study supports the concept that UCP2 and UCP3 may profoundly contribute to improvement of obesity and glucose metabolism in GTG induced obese mice via thrifty effects on heat production.

Keywords: Uncoupling protein, Goldthioglucose, obese, insulin resistance, energy metabolism*J Saitama Med School 2001;28: 165 - 170*

(Received July 10, 2001)

緒 言

現在, 本邦においても食生活やライフスタイルの欧米化に伴い, 糖尿病, 高血圧, 高脂血症などいわゆる生活習慣病が急増している. その基盤として肥満が原因とされる場合が多い. 肥満は, 摂取エネルギーが消費エネルギーを上回るようなエネルギー収支のアンバランスによりおこる. 近年このような理由から, 肥満におけるエネルギー代謝が注目を集めるようになってきている. エネルギー代謝において, グルコースや脂肪酸などが酸化分解されるときに発生するエネルギーは, 最終的にはミトコンドリアでの酸化的リン酸化によってATPに転換され, 利用される. 転換効率は40%で, 残りは熱となり, 体温を上げる以外は利用されず, 放散される. 過食などによるエネルギー収支の乱れを調節する場合, ミトコンドリアでのエネルギー転換効

率を低下させ, 熱産生を積極的に行う. この調節性の熱産生に関わる候補分子が脱共役蛋白質 (uncoupling protein: UCP) であることが最近明らかとなった. 酸化分解脂肪組織には白色脂肪組織と褐色脂肪組織の2種類が存在するが, 肥満時に皮下や内臓周囲に大量に蓄えられるものは白色脂肪細胞である, 褐色脂肪細胞は, 冬眠動物や小型齧歯類に多くみられ, 冬眠からの覚醒時や寒冷暴露時の非ふるえ熱産生を行う発熱器官として知られてきた. 熱産生の過程として, UCPはミトコンドリア内膜に存在する32kDaの蛋白質で300前後のアミノ酸よりなり, 6つの膜貫通部分がある. UCP1は褐色脂肪に発現し, ATP合成に共役しない熱を発生させる事が知られている. しかし, ヒトを含めた多くの哺乳動物では, 褐色脂肪組織は新生児期以降はほとんど存在せず, その役割に関して重要視されることはあまりなかった. しかし, 1997年にこの脱共役蛋白質の新たなファミリー分子であるUCP2とUCP3がクローニングされて以来その働きに関して注

目が集まるようになった^{1,2)}. UCP2 は骨格筋, 肺, 白色脂肪細胞など幅広く発現しており, UCP3 は主に骨格筋に発現している. UCP2 およびUCP3 の働きに関しては様々な報告がなされており, 肥満との関係についても遺伝性肥満のWistar fattyラットでUCP3 遺伝子発現が低値である³⁾との報告もある.

そこで本研究は視床下部摂食中枢障害により肥満を惹起させる Gold thioglucose (GTG) をC3Hマウスに投与し, 肥満, 耐糖能障害モデルマウスを作製し, UCP2 およびUCP3 遺伝子発現の経時的变化を観察し, 本マウスにおける肥満, 耐糖能障害とインスリン抵抗性におけるUCP2 およびUCP3 の病態生理学的意義について検討した.

実験材料および方法

1. 動物の飼育条件

日本クレアよりC3Hマウスを6週齢で購入し実験に用いた. マウスは室温 $22 \pm 1^\circ\text{C}$, 湿度 $55 \pm 5\%$, 明暗周期 12 時間 (点灯 7 時, 消灯 19 時) の環境下で飼育した. 固形飼料は, オリエンタル酵母工業株式会社製の飼料 (359 kcal/100 g 中水分 7%, 粗蛋白質 24.5%, 粗脂肪 4.9%, 粗灰分 6.6%, 粗繊維 2.7%, 可溶性無窒素物 54.3%, ビタミンA 1300 IU, ビタミンE 6.7 mg, ビタミンB1 2.0 mg, ビタミンB2 1.1 mg, ビタミンB6 1.2 mg, ビタミンB12 5.9 μg , カルシウム 1.01 g, リン 0.78 g, マグネシウム 0.21 g, ナトリウム 0.23 g, カリウム 0.85 g) を用い, 水は自由に摂取させた.

2. GTG の投与

SIGMAより購入したGTGを生理食塩水に溶解し, 127.5 mM/10 μl のGTG溶液を作製した. そして, 6週齢のC3Hマウスの腹腔内に 10 $\mu\text{l/g} \cdot \text{BW}$ 投与した. 対照として生理食塩水を腹腔内に投与したものを用いた.

3. 生化学的検索

11 週齢, 16 週齢, 26 週齢において体重, 血糖, Total cholesterol (TC), Triglyceride (TG), Free fatty acid (FFA), レプチン値を測定した. なお, 血糖は簡易血糖測定器を用いて測定した. TCはHDAOS法 (WAKO Japan Co. Ltd., Osaka, Japan), TGはGPO, HDAOS法 (WAKO Japan Co. Ltd., Osaka, Japan), FFAはNEFA-SS法 (Eiken Japan Co. Ltd., Tokyo, Japan), レプチン値濃度はRIA (2抗体法) にて測定した.

腹腔内グルコース負荷試験: Intraperitoneal glucose toleranse test (IPGTT) の施行

11 週齢と 26 週齢においては, 一晩絶食後にグルコース 1.5 mg/g $\cdot \text{BW}$ を腹腔内投与してIPGTTを施行した. IPGTTは血糖値および血漿immunoreactive insulin (IRI) をグルコース投与前, 60 分, 120 分後に測定した. IRIは森永生化学研究所より購入したインスリン測定キットにて測定し, 標準インスリンとして, 森永凍結乾燥マウスインスリン標準品を用いた.

膵 Cell Massの測定

11 週齢, 16 週齢, 26 週齢においてマウス (6 週齢 Control群 3 匹, 11 週齢Control群 8 匹, 11 週齢GTG群 8 匹, 16 週齢Control群 6 匹, 16 週齢GTG群 6 匹, 26 週齢Control群 9 匹, 26 週齢GTG群 10 匹) をエーテル麻酔下に心採血にて屠殺し, 膵臓を摘出した. 膵臓は約 20 個に細切し, 常法に従ってブアン固定後パラフィン包埋を行った. 膵島 細胞量を評価するため, ISHIIらの方法⁴⁾に従って, 各膵切片を脱パラ後, 非細胞を抗グルカゴン (1:100 希釈), 抗ソマトスタチン (1:700 希釈), 抗膵ペプチド (1:200 希釈), 混合抗体で反応後, LSAB Kit (DAKO Japan Co. Ltd., Kyoto, Japan), AEC Substrate Kit (DAKO Japan Co. Ltd., Kyoto, Japan) を用いて赤褐色に染色した. 12 時間 3M のチオシアン酸アンモニウム液に浸し, これらの抗体を不活化させた後, 膵細胞を抗インスリン抗体 (1:200 希釈) で反応後, Vectastain ABC-AP Kit (Vector Co, Ltd., USA), Alkaline Phosphatase Substrate Kit III (Vector Co. Ltd., CA, USA) を用いて青色に染色した. 膵細胞量の評価はBouwenらの方法⁵⁾に従った. すなわち, 各組織標本上の膵組織全体像と全膵島像を CCDカメラ (Olympus Co. Ltd., Tokyo, Japan) を介して顕微鏡 (Olympus Co. Ltd., Tokyo, Japan) にて Macintosh コンピュータ (Apple Co. Ltd., CA, USA) に取り込んだ. その後 NIH Image1.60 (NIH, USA) を用いて, 取り込んだ膵組織像と膵細胞をそれぞれ手動で形取り面積を解析した. 膵細胞量は全膵組織に占める膵細胞の割合として求めた.

UCP2, UCP3 の分析

大腿四頭筋より骨格筋を採取し, 6W, 11W, 16W, 26WのUCP2 およびUCP3 遺伝子発現量を経時的に分析した. Micro Macs mRNA isolation kit (第一化学薬品株式会社) を用いて, 各週齢の骨格筋より抽出した mRNA (200 ng) に antisense primer と逆転酵素を用いて一本鎖cDNAを合成し, これをPCR反応の基質とした. PCR反応は, sense primer と antisense primer およびTaq polymeraseを用いて 40 サイクル施行した. 反応条件はdenature (94°C 30 秒), annealing (60°C 1 分), extension (72°C 1 分) とした. それぞれの塩基配列は,

-ACT

UP 5'-GTGGGGCGCCCCAGGCACCA-3'

DN 5'-CTCCTTAATGTACGCACGATTC-3'

UCP-2

UP 5'-AGCTGCCTGCATTGCAGATC-3'

DN 5'-CATCTGTAGGCTGGGCTACA-3'

UCP-3

UP 5'-GAGCTTTGCCTCCATCTGAA-3'

DN 5'-CATCTGTAGGCTGGGCTACA-3'

定量分析にはUltra violet products (UVP) 社のImage Store7500 と NIH image (version 1.60) を利用した.

統計解析

全ての値は、断りのない限り平均±標準偏差で表した。各群間の体重および細胞の定量はFisher法にて多群間解析を行った。IPGTTにおける血糖、IRIはScheffe法を用いて多群間解析を行った。レプチン値、総コレステロール、中性脂肪、遊離脂肪酸、UCP2およびUCP3もScheffe法を用いて多群間解析を行った。 $p<0.05$ を有意差ありと判定した。

結果

(1) 体重の推移

体重増加においては、11週ではcontrol群 21.6 ± 1.1 g に対しGTG群 25.4 ± 0.894 g, 16週ではcontrol群 25.9 ± 0.97 g に対して 38.3 ± 6.094 g, 26週ではcontrol群 28.125 ± 2.2 g に対してGTG群 42.1 ± 1.6 g でありGTG群ではcontrol群に比べ有意 ($p<0.05$) な体重増加が認められた (Fig. 1)。

(2) 腹腔内グルコース負荷試験の結果

IPGTTでの血中インスリン値には、11週ではcontrol群は前値で 0.211 ± 0.94 μ U/ml, 60分値 0.460 ± 0.195 μ U/ml, 120分値 0.792 ± 0.391 μ U/ml であったのに対し, GTG群では前値で 0.556 ± 0.160 μ U/ml, 60分値 1.295 ± 0.195 μ U/ml, 120分値 1.560 ± 0.621 μ U/ml であった。この結果ではcontrol群に比しGTG群で60分値では有意な増加を認め ($P<0.05$), 120分値も増加傾向が認められた。そして、26週においてもcontrol群は前値で 0.234 ± 0.206 μ U/ml, 60分値 0.883 ± 0.539 μ U/ml, 120分値 0.617 ± 0.401 μ U/ml であったのに対し, GTG群では前値で 0.840 ± 0.226 μ U/ml, 60分値 1.277 ± 0.657 μ U/ml, 120分値 1.102 ± 0.458 μ U/ml であった。26週に関してもcontrol群とGTG群間で増加傾向が認められた (Fig. 2)。

(3) 脂質代謝

TC値, TG値, FFA値に関してもGTG群で有意な増加を認めた (Table 1)。

(4) レプチン

レプチン値は対照群と比較して11週ではcontrol群で 0.85 ± 0.173 ng/ml, GTG群で 15.867 ± 3.715 ng/ml, 16週ではcontrol群で 0.775 ± 0.250 ng/ml, GTG群で 16.871 ± 2.430 ng/ml, 26週ではcontrol群で 2.250 ± 1.061 ng/ml, GTG群で 14.457 ± 1.938 ng/ml と, GTG群で明らかな増加を認めた ($P<0.001$) (Fig. 3)。

(5) 膵組織の変化

経時的に測定したGTG群の膵細胞量は11週では有意差を認めなかったが, 16週よりcontrol群と比較し16週で 0.582 ± 0.181 vs 1.260 ± 0.459 と明らかな増加を認め, 26週で 0.615 ± 0.240 vs 2.058 ± 0.896 cell mass/pancreas ($P<0.05$) と著増した (Fig. 4)。

(6) UCP遺伝子発現の変化

UCP-2 遺伝子発現量はcontrol群に比しGTG群の11

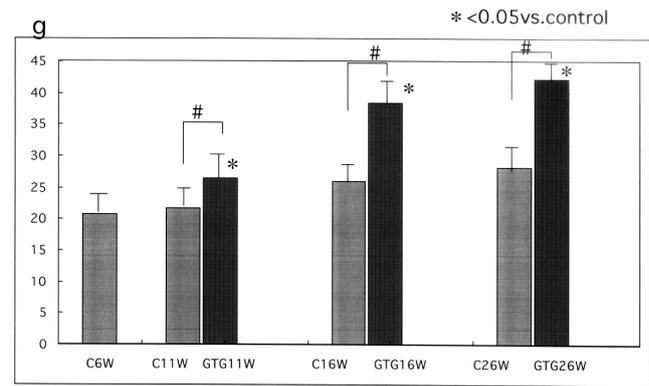


Fig. 1. Comparison of body weight in the control and GTG-treated groups at the age of 11, 16 and 26 weeks. Body weight were significantly increased at the age of 11, 16 and 26 weeks in GTG mice in comparison with age matched control mice. # <0.05 . Also body weight were significantly increased at the age of 11, 16 and 26 weeks in GTG mice in comparison with at the age of 6 weeks in control mice. * <0.05 (mean \pm SD), C: control, GTG: Gold thioglucose.

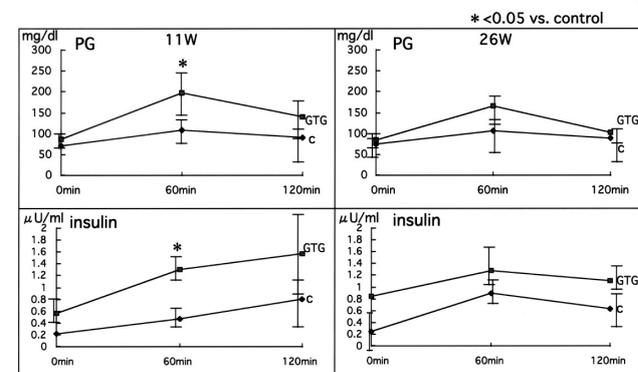


Fig. 2. Responses of plasma glucose (PG) and IRI levels to IPGTT in control and GTG-treated groups at the age of 11 and 26 weeks. Plasma glucose and insulin levels were significantly increased at the age of 11 weeks in GTG mice in comparison with control mice. * <0.05 (mean \pm SE), ■: GTG, ◆: control.

Table 1. Profiles of lipid metabolism of control and GTG group

Weeks		* <0.05 vs. control		
		TC mg/dl	TG mg/dl	FFA meq/l
6	C	125.5 ± 6.64	85.0 ± 4.04	1.095 ± 0.106
	GTG	$143.8 \pm 3.67^*$	$227.2 \pm 16.06^*$	$1.908 \pm 0.098^*$
11	C	110.8 ± 3.97	123.3 ± 13.48	1.222 ± 0.059
	GTG	$143.8 \pm 3.67^*$	$227.2 \pm 16.06^*$	$1.908 \pm 0.098^*$
16	C	105.0 ± 6.178	101.0 ± 19.4	1.118 ± 0.161
	GTG	$144.4 \pm 9.451^*$	$143.9 \pm 26.30^*$	$1.609 \pm 0.184^*$
26	C	117.7 ± 6.33	59.3 ± 13.383	0.703 ± 0.042
	GTG	$149.7 \pm 6.42^*$	$191.3 \pm 16.89^*$	$1.654 \pm 0.071^*$

Total cholesterol (TC), Triglyceride (TG), Free fatty acid (FFA) levels of GTG mice at the age of 11, 16 and 26 weeks increased significantly more than those of control mice. * <0.001 (mean \pm SD), C: control, GTG: Gold thioglucose.

週で 0.372 ± 0.158 vs 0.366 ± 0.248 control群に比しGTG群の16週で 0.218 ± 0.095 vs 1.137 ± 0.277 control群に比しGTG群の26週で 0.258 ± 0.205 vs 0.746 ± 0.658 と発現量はGTG群の16週で頂値に達し, control群と比べ約5.2倍の増加を認められた。その後, 26週でもcontrol群と比べGTG群で約2.9倍の増加が認められた (Fig. 5A)。

UCP-3 遺伝子発現量はcontrol群に比しGTG群の11週で 0.415 ± 0.031 vs 0.500 ± 0.163 , control群に比しGTG群の16週で 0.811 ± 0.124 vs 2.209 ± 0.753 , control群に比しGTG群の26週で 0.748 ± 0.052 vs 1.702 ± 0.318 と16週で頂値に達し, control群と比べGTG群で16週で約2.7倍の増加を認め, 26週でもcontrol群と比べGTG群で約2.3倍の増加が認められた (Fig. 5B)。

考 察

肥満症は, インスリン抵抗性を示す病態として代表的な疾患の一つであるが, インスリン抵抗性をきたす病因として, インスリン受容体数の減少や機能低下などが関与していると考えられている。GTG投与により肥満となったマウスがインスリン抵抗状態にあることはすでに報告されているが^{6,8)}, 本研究では, Fig. 2に示すように11週齢のIPGTTの結果においてGTG群で血糖値, 血中IRI値(60分値)は有意に増加し, インスリン抵抗性の存在が考えられた。しかしながら, 26週齢ではGTG群で血糖値, IRI値とも有意な増加を示さず, 増加傾向にとどまったが, このことはUCP2遺伝子発現の増加がインスリン分泌を抑制する^{9,10)} ことにより明らかな高インスリン血症を示さなかった可能性が推測される。事実, GTG群11週齢に比し, 26週齢において明らかにUCP2遺伝子発現は増加していた (Fig. 5A)。また, GTG群において11週齢より体重はcontrol群に比し有意に増加し (Fig. 1), 血中遊離脂肪酸 (FFA) を始めとして総コレステロール (TC), 中性脂肪 (TG) のいずれも高値 (Table 1) であった。これらの成績はインスリン抵抗性の存在を示唆する成績と考えられる。以上のことから本研究で用いたGTG誘発肥満マウスも従来の報告と同様に肥満を伴ったインスリン抵抗性モデルと考えられる。一方, 膵細胞量においてもGTG群で週齢の増加と共に細胞量は増加し, 16週齢, 26週齢においてはcontrol群と比し, それぞれ有意な増加を認め (Fig. 4), 体重の増加と呼応していた。GTG群26週齢の膵細胞量がcontrol群に比して有意に増加していたにもかかわらず, IPGTT時の血中IRI値が増加傾向に留まったのは前述のようにUCP2遺伝子発現の増加によるものと推測される。GTG肥満誘発マウスのインスリン抵抗性を来す機序として, 吉野ら⁸⁾ はGTG肥満誘発マウスの肝のインスリン受容体について, その自己リン酸化能がコントロールと比べ約半分に減弱し, 受容体以後のシグナル

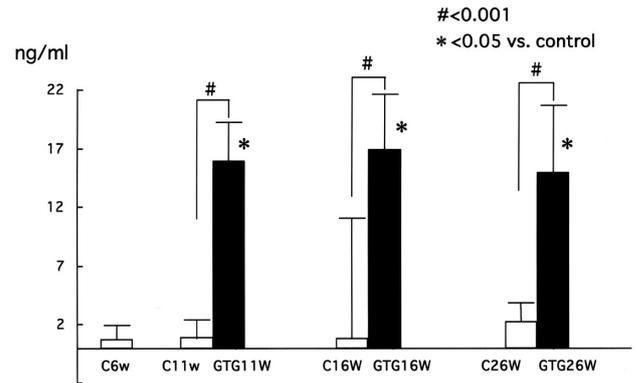


Fig. 3. Serum leptin levels in control and GTG-treated groups at the age of 11, 16 and 26 weeks. Serum leptin levels were significantly increased at the age of 11, 16 and 26 weeks in GTG mice in comparison with age matched control mice. # < 0.05. Also Serum leptin levels were significantly increased at the age of 11, 16 and 26 weeks in GTG mice in comparison with at the age of 6 weeks in control mice. * < 0.05 (mean \pm SD), C: control, GTG: Gold thioglucose.

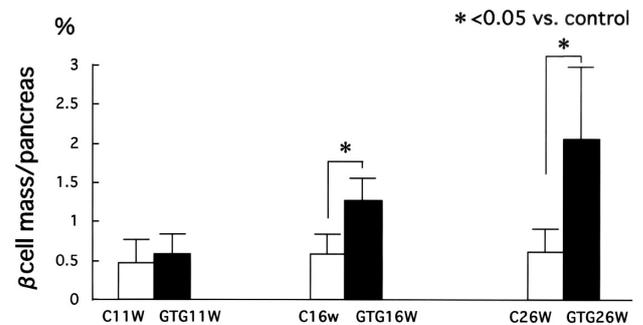


Fig. 4. Pancreatic beta-cell mass in control and GTG-treated groups at the age of 11, 16 and 26 weeks. Pancreatic beta cell mass was significantly increased in GTG mice at the age of 16 and 26 weeks. * < 0.05 (mean \pm SD), C: control, GTG: Gold thioglucose.

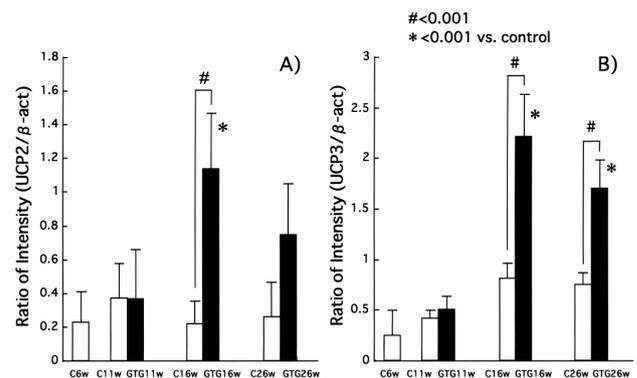


Fig. 5(A), (B). Quantitation of UCP2 (A) and UCP3 (B) gene expression in skeletal muscle was performed during the disease development. Densitometric analyses were performed to quantitate relative ratios between UCPs gene and β -actin gene in 11, 16 and 26 weeks. # < 0.001. Also UCP2 (A) and UCP3 (B) gene expression were significantly increased at the age of 11, 16 and 26 weeks in GTG mice in comparison with at the age of 6 weeks in control mice. * < 0.05 (mean \pm SD), * < 0.001 (mean \pm SD), C: control, GTG: Gold thioglucose.

伝達を障害すると報告している。

肥満とインスリン抵抗性との関連性について以前より生体内に体脂肪量を調節している機構、いわゆる飽食因子が存在していることが推定されていた¹¹⁾。1994年にFriedmanら¹²⁾によって遺伝性肥満ob/obマウスの肥満の病因遺伝子が同定され、その肥満遺伝子産物であるレプチンが発見された。レプチンは167アミノ酸からなるレプチン前駆体蛋白として脂肪細胞に特異的に発現し、21アミノ酸からなるシグナルペプチドを除去した146アミノ酸として循環血中に分泌される^{12,13)}。そして、レプチンは脂肪滴を豊富に含有する成熟脂肪細胞のみに検出され、未分化前駆脂肪細胞では検出されない¹⁴⁾。したがって、レプチンの産生は、脂肪細胞量に依存していると考えられている。滝沢ら¹⁵⁾は血中レプチン濃度はボディマス指数 (body mass index; BMI) や体脂肪量と正の相関を示したと報告している。またレプチンと高親和性を有するレプチン受容体は1162アミノ酸からなり、視床下部に高濃度に発現していることが報告されている¹⁶⁾。体脂肪の増加に伴いレプチンは視床下部レプチン受容体に作用し、摂食抑制を起こす。また、交感神経系を亢進させエネルギー消費の増大をきたすこと^{13,17)}により体脂肪を減少させるフィードバック機構をつかさどっている。またインスリンは脂肪細胞でのレプチン遺伝子の発現亢進と産生を刺激すると報告されており^{18,19)}インスリン抵抗性および高インスリン血症と正の相関を示すと報告されている¹⁵⁾。今回の成績においても、体重の増加とともに血中レプチン値は有意な増加を示しており (Fig. 4)、これらの報告と一致している。しかしながら、体重の増加の著しくない11週齢においても血中レプチンは著増しており、このことは同週齢のIPGTTで認められた高インスリン血症の結果と考えられる。GTG群の16週齢、26週齢における高レプチン血症はむしろ体重増加にともなう体脂肪量、脂肪細胞量の増加による絶対的レプチン分泌量の増大の可能性が考えられる。また、最近レプチン自体がUCP2、UCP3の遺伝子発現を増加させるとの報告がある¹³⁾。今回の成績でGTG群16週齢、26週齢で高レプチン血症が認められ、UCP2、UCP3遺伝子発現も増加しており、レプチンによる影響も否定できない。しかし、高レプチン血症が存在する11週齢においてもUCP2、UCP3遺伝子発現が増加していないことからUCP2、UCP3遺伝子発現は高レプチン血症による影響よりはむしろ体重増加によると考えられる。

また、肥満とUCPに関して様々な報告がなされており、UCP1を過剰発現させたマウスは、体脂肪量が減少し²⁰⁾、UCP1発現を1/3以下に低下させたマウスでは、摂餌量がコントロールと同程度であったにも関わらず体脂肪量の有意な増加がみられたとの報告も

ある²¹⁾。UCP3でもほぼ同様な報告がなされており、UCP3過剰発現マウスにおける体重減少²²⁾や逆にUCP3ノックアウトマウスでの体脂肪増加の報告²³⁾もされている。今回の成績では、UCP2およびUCP3遺伝子の発現量は肥満初期すなわち体重増加の時期の16週齢までは有意な増加をみとめ、以後26週齢では低下傾向を示した。このことは、肥満の体重増加の始まる時期には体重増加を抑制するために代償的にUCP2およびUCP3が増加し肥満を是正するように働いていると考えられた。すなわち、ミトコンドリア内での酸化リン酸化を脱共役する活性が上昇することで、酸化基質の化学的エネルギーはATP合成に利用されず、熱へと変換され散逸消費され、肥満を是正するよう作用したと考えられる。しかし、いったん体重増加がプラトーに達し、肥満が遷延するとUCP2およびUCP3遺伝子発現量が低下し、熱産生が低下すると考えられた。この代償機構に関しては、松田らが高脂肪食肥満ラットにおいて4週後のUCP3遺伝子発現が骨格筋で2.0倍に、UCP2遺伝子発現が白色脂肪で1.5倍に増加すると報告している²⁴⁾。また、本研究ではインスリン抵抗性を示すGTGマウスでUCP2、UCP3遺伝子発現の増加が認められたが、逆にヒト2型糖尿病ではインスリン感受性とUCP3との間に正の相関がみられる²⁵⁾との報告もされている。

結 論

C3HマウスにGTGを投与し肥満モデルマウスを作成した。このマウスには明らかな肥満とインスリン抵抗性が認められた。そしてUCPs遺伝子発現との間に正の関連性が認められUCP2およびUCP3遺伝子発現増強により熱産生を促し、肥満に代償的に作用している可能性が示唆された。しかし、肥満が遷延し、体重増加がプラトーに達すると、体重増加にもかかわらずUCPs遺伝子発現量の減少が認められ、エネルギー摂取量に比較して相対的な熱産生の低下が存在するものと考えられた。以上より本肥満マウスの肥満の成因に熱産生異常が関与し、この熱産生の調節を担っている可能性がありUCPsの遺伝子発現量が低下すると熱産生、熱の散逸が減少し、体重増加が惹起されると推測された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました埼玉医科大学第四内科片山茂裕教授に深謝致します。また、直接指導、教示頂きました根岸医院院長根岸清彦先生、飯能市立病院内科部長竹井真一郎先生、また貴重な助言を頂きました、国立埼玉病院内科医長石井主税先生、関越病院太根伸能先生、横田医院院長横田健介先生、及び浅見芳子実験助手に感謝いたします。

参考文献

- 1) Fleury C, Neverova M, Collins S, Raimbault S, Champigny O, Levi-Meyrueis C, et al. Uncoupling Protein-2: a novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia. *Nat Genet* 1997;15:269-72.
- 2) Boss O, Samec S, Paoloni-Giacobino A, Rossier C, Dulloo A, Seydoux J, et al. Uncoupling protein-3: a new member of the mitochondrial carrier family with tissue-specific expression. *FEBS Lett* 1997;408:39-42.
- 3) Matsuda J, Hosoda K, Itoh H, Son C, Doi K, Hanaoka I. Increased adipose expression of the uncoupling protein-3 gene by thiazolidinediones in Wistar fatty rats and in cultured adipocytes. *Diabetes* 1998;47:1809-14.
- 4) Ishii C, Kawazu S, Utsugi T, Ito Y, Ohno T, Kato N, et al. Beta-cell replication in insulin-induced remission of IDDM in BB/Wor//Tky rats. *Diabetes Res* 1996;31:1-18.
- 5) Bouwens L, Wang RN, De Blay E, Pipeleers DG, Kloppel G. Cytokeratins as markers of ductal cell differentiation and islet neogenesis in the neonatal rat pancreas. *Diabetes* 1994;43:1279-83.
- 6) Katsuki S, Hirata Y, Horino M, Ito M, Ishimoto M, Hososako A. Obesity and hyperglycemia induced in mice by goldthioglucose. *Diabetes* 1962;11:209-15.
- 7) Le Marchand Y, Freychet P, Jeanrenaud B. Longitudinal study on the establishment of insulin resistance in hypothalamic obese mice. *Endocrinology* 1978;102:74-85.
- 8) 吉野博子. Goldthioglucose肥満マウスのインスリン抵抗性と間インスリン受容体に関する研究. *東京女子医大誌* 1990;60:331-41.
- 9) Chan CB, MacDonald PE, Saleh MC, Johns DC, Marban E, Wheeler MB. Overexpression of uncoupling protein 2 inhibits glucose-stimulated insulin secretion from rat islets. *Diabetes* 1999;48:1482-6.
- 10) Zhang CY, Baffy G, Perret P, Krauss S, Peroni O, Grujic D, et al. Uncoupling protein-2 negatively regulates insulin secretion and is a major link between obesity, cell dysfunction, and type 2 diabetes. *Cell* 2001;105:745-55.
- 11) Kennedy GC. The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. *Proc R Soc Lond Ser B* 1953;140:578-92.
- 12) Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994;372:425-32.
- 13) Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, et al. Effect of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 1995;269:540-3.
- 14) Masuzaki H, Ogawa Y, Isse N, Satoh N, Okazaki T, Shigemoto M, et al. Human obese gene expression. Adipocyte-specific expression and regional difference in the adipose tissue. *Diabetes* 1995;44:855-8.
- 15) 滝沢英毅, 島本和明. 高血圧の臨床 最近の進歩 インスリン抵抗性とレプチン. *Pharma Medica* 2000;18:69-74.
- 16) Considine RV, Considine EL, Williams CJ, Nyce MR, Magosin SA, Bauer TL, et al. Evidence against either a premature stop codon or the absence of obese gene mRNA in human obesity. *J Clin Invest* 1995;95:2986-8.
- 17) Maffei M, Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Y, et al. Leptin levels in human and rodent; measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat Med* 1995;1:1155-61.
- 18) Saladin R, De Vos P, Guerre-Millo M, Leturque A, Girard J, Staels B, et al. Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration. *Nature* 1995;377:527-9.
- 19) Boden G, Chen X, Kolaczynski JW, Polansky M. Effect of prolonged hyperinsulinemia on serum leptin in normal human subjects. *J Clin Invest* 1997;100:1107-13.
- 20) Kopecky J, Clarke G, Enerback S, Spiegelman B, Kozak LP. Expression of the mitochondrial uncoupling protein gene from the aP2 gene promoter prevents genetic obesity. *J Clin Invest* 1995;96:2914-23.
- 21) Lowell BB, S-Susulic V, Hamann A, Lawitts JA, Himms-Hagen J, Boyer BB, et al. Development of obesity in transgenic mice after genetic ablation of brown adipose tissue. *Nature* 1993;366:740-2.
- 22) Clapham J, Arch J, Harper A, Lister C, Rastan S, Abuin A. Phenotypic characterization of transgenic mice overexpressing human UCP3 (abstract). *Obes Res* 1999;7(Suppl 1):61S.
- 23) Harper ME, Monemdjou S, Melnyk A, Hagen JH, Gong DW, Reitman M. Decreased mitochondrial protein leak in skeletal muscle mitochondria in UCP3 deficient mice (Abstract). *Obes Res* 1999;7(Suppl 1):61S.
- 24) Matsuda J, Hosoda K, Itoh H, Son C, Doi K, Tanaka T, et al. Cloning of rat uncoupling protein-3 and uncoupling protein-2 cDNAs: their gene expression in rats fed high-fat diet. *FEBS Lett* 1997;418:200-4.
- 25) Krook A, Digby J, O'Rahilly S, Zierath JR, Wallberg-Henriksson H. Uncoupling protein 3 is reduced in skeletal muscle of NIDDM patient. *Diabetes* 1998;47:1528-31.