

# 博士論文審査報告書

論文題目 : Roles of Perilipin 5 and lipid droplets in the heart

- Phenotypic analyses of Perilipin 5 knockout mice -

「心臓における Perilipin 5 と脂肪滴の役割 — Perilipin 5 ノックアウトマウスの解析 —」

申請者 : 倉元謙太

## 1. 論文内容の要旨

脂肪滴は、トリグリセリド(TG)などの中性脂質を貯蔵する細胞小器官である。哺乳類には脂肪滴はほぼすべての細胞に存在するが、その大きさ、数、性質などは組織によって異なる。脂肪滴の性質を規定する上で種々の脂肪滴結合タンパク質が重要と考えられ、特にその主成分であるペリリピンファミリータンパク質の役割が注目されている。心臓は所要エネルギーの約3分の2を脂肪酸に依存し、高い脂質代謝能をもつ。生理的条件下では、心臓にはきわめて微小な脂肪滴が存在するが、血流からの脂肪酸の供給が増加する条件下では脂肪滴の肥大が認められる。ペリリピンファミリーのうちペリリピン5 (Plin5) は、心臓で特に高度に発現している。申請者は心臓における Plin5 および脂肪滴の生理的役割を明らかにするため、Plin5 ノックアウト(KO)マウスの表現型を解析した。

Plin5-KO マウスは体重、組織重量、生殖能などに関して正常であった。しかし電子顕微鏡観察において心臓に脂肪滴が認められず、また心臓の TG および脂肪酸の量が有意に低下していた。開胸下にリパーゼ阻害剤を灌流すると、心臓に脂肪滴が観察されるようになったことから、Plin5 は心臓において、リパーゼによる攻撃から脂肪滴を保護するために必須と考えられる。心筋初代培養細胞を用いた代謝実験により、Plin5-KO マウスの心臓では、ミトコンドリアにおける脂肪酸の酸化が亢進していることが示された。また心臓の過酸化脂質含有量が増加しており、脂肪酸酸化の亢進に伴って活性酸素種(ROS)の産生が増大していることが示唆された。これによる心機能への影響を心エコーによって調べたところ、Plin5-KO マウスでは加齢に伴う心機能の低下が促進されていることが明らかになった。還元剤 N-アセチルシステイン(NAC)を長期投与したところ、心機能低下は見られなくなり、同時に過酸化脂質の蓄積も解消されていたことから、Plin5-KO マウスにおける心機能の低下は、ROS による酸化傷害の蓄積によるものと考えられる。以上の結果より、生理的条件下において、Plin5 は心臓の脂肪滴を維持することによって脂肪酸を TG の形で脂肪滴に隔離し、それによって過剰な脂肪酸酸化とそれに伴う ROS の過剰産生を防ぎ、酸化傷害による心機能低下を防止していると結論された。

一方、糖尿病などの病的条件下では、血中脂肪酸量の上昇によって心臓への脂肪酸流入が増加し、これによる過剰な脂質蓄積が心筋症を引き起こす可能性が指摘されている。申請者は、Plin5-KO マウスに糖尿病を誘発しても心臓への TG 蓄積が起こらず、心筋症を発症しないことを見出した。野生型糖尿病マウスでは心臓の過酸化脂質が増加していたが、Plin5-KO マウスでは増加していなかった。野生型糖尿病マウスに NAC を連続投与すると

心機能が回復し、過酸化脂質量も減少したことから、ROS の過剰産生が糖尿病性心筋症の主要因と考えられた。野生型糖尿病マウスでは ROS 産生酵素 NADPH オキシダーゼの発現が増加していたが、Plin5-KO マウスでは変化がなかった。またこの酵素の活性発現を促進するプロテインキナーゼ C (PKC) のリガンドであるジグリセリドやセラミドの量は、野生型マウスでのみ、糖尿病によって増加していた。これらの結果から、糖尿病においては心臓への TG 蓄積に伴う脂質リガンドの増加により、PKC を介して NADPH オキシダーゼが活性化され、それによって増加した ROS による酸化傷害が心筋症を導くと結論された。

## 2. 論文審査結果

脂肪滴の研究は、これまで脂肪細胞を中心に行われ、ペリリピンファミリーに代表される脂肪滴結合タンパク質による脂肪蓄積や脂肪動員の調節機構に関して、目覚ましい進展が見られている。これに対して非脂肪組織の脂肪滴については、その役割すらほとんど明らかになっていなかった。申請者は、心臓に高発現するペリリピン 5 (Plin5) に注目し、そのノックアウトマウスを用いて心臓の脂肪滴、および脂肪滴結合タンパク質の役割を解析した。その結果、Plin5 は心臓の脂肪滴の維持に必須であること、心臓の脂肪滴は脂肪酸をトリグリセリドとして隔離することによって、過剰な脂肪酸酸化とそれに伴う活性酸素種の産生を抑制し、心臓を酸化傷害から保護する役割をもつことが明らかになった。さらに、糖尿病などの病的状態では、Plin5 のノックアウトマウスは心筋症の発症を免れることを見出し、これを利用して脂質毒性による糖尿病性心筋症の発症機構に迫る知見を得た。これらの成果は、非脂肪組織の脂肪滴に関して生理的、および病的条件下での役割を明らかにしたものであり、生物学的にも医学的にも重要な意義をもつものである。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値のあるものと認める。

また、平成25年1月25日、論文内容およびこれに関連する事項について試問を行った結果、合格と判定した。

主査：大隅 隆 印

副査：樋口 芳樹 印

：吉田 秀郎 印

：藤本 豊士 印

(名古屋大学大学院医学系研究科、教授)