

## 総 説

### 肥満と遺伝子診断

島 健 二

臨床検査医学教室

#### *Genetic disorders in obesity*

Kenji Shima

Department of Laboratory Medicine, School of Medicine, The University of Tokushima, Tokushima

#### はじめに

肥満が成人病（生活習慣病）発症に深く関与していることは周知の事実であり、そのためもあって肥満の発症機構についてこれまで多くの研究がなされてきた。しかし、多くの研究も分子レベルにまで掘り下げてというには至っていなかった。そのような状況下で、肥満研究を画期的に展開させるきっかけとなったのが、1994年のFriedmanらのobese (ob) 遺伝子のクローニングの成功である<sup>1)</sup>。また、 $\beta 3$  アドレナリン受容体 ( $\beta 3$ -AR) のミスセンス変異がピマインディアンにおいて高率に認められたという報告も、肥満発症の分子生物学的研究の一つの大きなインパクトを与えた。本論文では、ob 遺伝子蛋白 (leptin) の肥満との関係を①食欲抑制機構、②血中動態の面から論じると共に、leptin の食欲調節以外の作用についても言及する。また、 $\beta 3$ -AR の生体内での役割、肥満との関わりをミスセンス受容体の面から捉え解説する。さらに、これら二つの機構の相互作用についてもふれ、肥満発症の分子生物学的機構を総合的に考察したい。

#### 1 レプチン

ob 遺伝子蛋白を leptin と呼ぶが、この leptin はギリシャ語の  $\lambda\epsilon\pi\omicron\varsigma$  (thin) に由来する。167個のアミノ酸によって構成され、N 端側21個はシグナルペプチドで、分泌時にはこれがはずれ、22-167の分子量16kDa のペプチドとなる。アミノ酸組成はヒト、ラット間で82%の、またラット、マウス間で96%の相同性を有する。leptin mRNA は脂肪組織においてのみ発現しており、<sup>2)</sup>脂肪細胞で合成、分泌されることは明らかである<sup>3)</sup>。leptin は

leptin receptor (OB-R) に結合して、その作用を発揮すると考えられている。一方、OB-R は脈絡膜<sup>4)</sup>や視床下部にその存在が確認され、摂食調節に関しては、視床下部が作用の場と考えられる。

#### 2 leptin の食欲抑制作用

遺伝性肥満マウスである ob/ob マウスは、ob 遺伝子のナンセンス変異のため活性を持つ leptin が産生されず、肥満となる。一方、db/db マウスは過食、肥満という表現型は ob/ob マウスと同じであるが、このマウスでは leptin は欠損せず、OB-R に異常のあることが判明している。これらの成績からして、leptin が摂食、体重調節に関与していることは明らかである。また、組み換えヒト leptin を投与すると、ob/ob マウスでは摂餌量および体重は低下するが、OB-R に異常のある db/db マウスでは摂餌量、体重は変化しない<sup>5)</sup>。正常マウス、ラットにおいても、外因性 leptin は ob/ob マウスに比し軽度ではあるが、摂餌量、体重減少作用を発揮する。ob/ob マウスのように leptin 欠損の結果、肥満をきたすラットは発見されていないが、OB-R の異常による遺伝性肥満ラット (Zucker Fatty<sup>6)</sup>, Wistar Fatty<sup>6)</sup>, Koletsky rat<sup>7)</sup>) は存在する。leptin は視床下部に働き直接食欲を抑制するのではなく、食欲亢進作用のある neuropeptide Y (NPY) の弓状核における産生を抑制して間接的に摂餌量を減少させている<sup>5)</sup>と考えられている。

#### 3 leptin の血中動態

leptin の radioimmunoassay 法が確立され<sup>8)</sup>ると、肥満あるいはやせでの血中 leptin 濃度が一斉に測定された。この目的は勿論ヒトにおいても、leptin 欠損が肥満を、

逆に leptin 過剰がやせの原因になっているか否かを究明することになった。しかし、ヒトにおいては遺伝性マウスのように肥満あるいはやせに leptin が病的に関与しているという結果は最近になるまで得られなかった。BMI と血中 leptin 濃度には有意の正相関関係が存在する。すなわち、肥満すればするほど、血中 leptin 濃度は上昇するというもので、両者の関係は超肥満においてもあてはまる<sup>9)</sup>。

神経性食思不振症は leptin の過剰産生の結果かという疑問も、そうでないという解答が得られた<sup>10)</sup>。神経性食思不振症患者の血中 leptin 濃度、 $5.6 \pm 3.7 \text{ ng/ml}$  は正常対象のそれ、 $19.1 \pm 8.1 \text{ ng/ml}$  に比し有意に低値であり、また、患者群においても血中 leptin 濃度は BMI に正相関するというものである。このように、血中 leptin 濃度の成績はヒトでの異常体重の原因を leptin 産生異常に求めようとした研究者の期待を裏切る結果となった。

しかし、極く最近、ob 遺伝子異常による肥満症の 2 症例が報告され<sup>11)</sup>、ヒトにおいてもレプチン欠損が肥満の原因になることが明らかとなった。これは、レプチン遺伝子の 133 番コドンの guanine が欠損したため、フレームシフトが生じ、異常レプチンが生じたことによる。患者は濃厚な血族結婚家系のいとこ同士で、第一例目は 8 歳女児で身長 137cm、体重 86kg と超肥満児、第二例目は 2 歳男児で身長 89cm、体重 29kg である。彼らの血中レプチン濃度は、それぞれ 0.11, 0.38ng/ml で、測定感度ぎりぎりの低濃度である。因みに当該施設での正常小児血中レプチン濃度は  $8.0 \pm 4.5 \text{ ng/ml}$  で、患者のレプチン濃度の絶対値が明らかに低値であるが、肥満を考慮すると更に著明な低値ということになる。

#### 4 leptin の生体内存在意義

現在明らかになりつつある leptin のその他の生物活性から、ひろく本物質の生体内存在意義を考えたい。

##### 1) 生殖器に対する作用

ob/ob マウスが不妊であることはよく知られているが、摂餌量制限で肥満を解消しても妊娠しない。一方、視床下部、下垂体などの抽出物を脳室内に投与すると妊娠する。gonadotropin や progesteron を投与しても同様なことが生じる。このような事実から、本マウスにおいては視床下部-下垂体系に障害があり、これが不妊の原因と考えられている。本マウスに leptin を投与すると、前述の実験結果<sup>5)</sup>のように体重は減少し、5~6 週間投与後妊娠、出産が可能になる<sup>12)</sup>。この際、摂餌制限を行い、leptin

投与群と同程度に体重を減少させても不妊は解消されないことから、leptin 投与による体重減少が妊娠、出産成功の直接的要因でないことは明らかである。ob/ob マウスに leptin を投与すると雌では血中 LH 濃度、雄では FSH 濃度が有意に上昇する<sup>13)</sup>。これらのみでなく、leptin 投与で子宮、卵巣、睪丸、細精管、いずれも妊娠成立に好都合な方向に変化する。このように leptin が生殖器の機能調節に重要な役割を演じていることは明らかである。妊娠の成立、継続のためには生体内に十分な energy が貯蔵されている必要がある。神経性食思不振症、重症 IDDM、あるいは長距離ランナー、バレエダンサーが不妊症であるのは、energy store が枯渇しているためであるが、この状態を中枢に伝える metabolic signal がなんであるか不明であった。貯蔵脂肪量の増加に応じて血中濃度が変化する leptin がこの metabolic signal である可能性がある。

##### 2) 造血に対する作用

造血幹細胞である CD34 陽性細胞に OB-R の存在が確認されている<sup>14,15)</sup>。また、leptin は in vitro 系において、幹細胞数を増加させることも明らかである<sup>15)</sup>。一方、leptin 作用が発揮されない db/db マウスでは末梢血中 B リンパ球、および CD4 陽性 T リンパ球数が激減しているという事実も知られている<sup>15)</sup>。このような成績から、cytokine の一種である leptin が造血因子として作用している可能性が考えられる。leptin が直接作用を発揮するのか、あるいは permissive に作用するのかは今後解明される必要がある。

## II $\beta 3$ -AR

### 1 $\beta 3$ -AR とその異常

1989年、ヒト  $\beta 3$ -AR の一次構造が解明され、408個のアミノ酸よりなることが明らかとなった<sup>16)</sup>。 $\beta 3$ -AR は脂肪組織、胆嚢、小腸の他胃、前立腺にも存在するが、脂肪組織での  $\beta 3$ -AR が肥満との関連において重要である。 $\beta 3$ -AR が刺戟されると脂肪分解と熱産生が亢進する。leptin が energy 摂取の関連から肥満に関与するとの対照的に  $\beta 3$ -AR は energy 消費の面から肥満に関係する。即ち、 $\beta 3$ -AR 作用が低下すれば energy 消費が減少し、energy 摂取量が一定なら肥満するということになる。

このような観点に立てば、高度の肥満が多いピマインディアンにおいて、 $\beta 3$ -AR 遺伝子ミスセンス変異 (64 番目アミノ酸 tryptophan の arginin への変化)<sup>17)</sup>が高率

に認められたという報告は、研究者にとって魅力あるものである。これについても、一斉に研究がなされた。しかし、結果は期待ほどには clear cut なものではなかった。 $\beta 3$ -AR 遺伝子ミスセンス変異個体は正常  $\beta 3$ -AR 個体に比し若干 BMI が大である<sup>18)</sup>、体重増加率が<sup>19)</sup>、NIDDM の発症がより若年に偏する<sup>19)</sup>、内臓脂肪が蓄積しやすく、インスリン抵抗性となりやすい<sup>20)</sup>など肥満、NIDDM 発症との関連を示唆する報告はあるが、その差が顕著というものはない。

## 2 $\beta 3$ -AR と leptin の相互作用

選択的  $\beta 3$ -AR 刺戟剤、あるいは norepinephrine はインスリン添加で促進している脂肪細胞からの leptin 分泌を抑制する。この抑制は cAMP 依存性 protein kinase の活性化と平行し、また、 $\beta 1$ 、 $\beta 2$  AR 阻害剤でも阻害されないことより  $\beta 3$ -AR 特異的と考えられる。一方、leptin は褐色脂肪細胞からの noradrenaline の放出を増加させ、 $\beta 3$ -AR を刺戟する。この事実は、ob/ob マウスに leptin を連続投与した場合、摂餌量、体重の低下以外に O<sub>2</sub> 消費量及び体温の上昇をきたしたとする成績とよく符合する。十分な成績があるというわけではないが、このように leptin、 $\beta 3$ -AR が相互に調節しあっている可能性がある。脂肪細胞量が増大した結果、過剰に放出された leptin は褐色脂肪細胞に作用し、そこよりの noradrenaline の放出を促進、 $\beta 3$ -AR を刺戟し、脂肪分解を促進、energy 消費を高めて脂肪細胞量を減少させると同時にそれ自身が leptin 分泌を抑制する、という feed back 機構がある。この機構は脂肪貯蔵量を energy 摂取、消費両面から smooth に調節することを可能にするものである。

## おわりに

ヒト肥満にレプチンの関与が明らかになり、レプチンの肥満治療への可能性が示された。しかし、ヒトにおいて、レプチン異常による肥満は頻度の低い特殊型であり、common form の肥満症はレプチン異常によるものとは思われない。レプチンは cytokine として、単に食欲調節のみでなく、その他の機能もあり、今後、この方面での研究成果がレプチンの意外な顔を明らかにしてくれるかも知れない。

なお、本論文は糖尿病学の進歩'97に発表した一部を改変したものである。

## 文 献

- 1) Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Baron, M., et al. : Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372 : 425-432, 1994
- 2) Murakami, T., Shima, K. : Cloning of rat obese cDNA and its expression in obese rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 209 : 944-952, 1995
- 3) Tsuruo, Y., Sato, I., Iida, M., Murakami, T., et al. : Immunohistochemical detection of ob gene product (leptin) in rat white and brown adipocyte. *Horm. Metab. Res.*, 28 : 753-755, 1996
- 4) Devos, R., Richard, J. G., Campfield, L. A., Tartaglia, L. A., et al. : OB protein binds specifically to the choroid plexus of mice and rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93 : 5668-5673, 1996
- 5) Stephens, T. W., Basinski, M., Bristow, P. K., Bue-Vallesky, J. M., et al. : The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. *Nature*, 377 : 530-532, 1995
- 6) Iida, M., Murakami, T., Ishida, K., Mizuno, A., et al. : Phenotype-linked amino acid alteration in leptin receptor cDNA from Zucker Fatty (fa/fa) rat. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 222 : 19-26, 1996
- 7) Takaya, Y., Ogawa Y., Hiraoka, J., Hosoda, K., et al. : Nonsense mutation of leptin receptor in the obese spontaneously hypertensive Koletsky rat. *Nature Genet*, 14 : 130-131, 1996
- 8) Iida, M., Murakami, T., Yamada, M., Sei, M., et al. : Hyperleptinemia in patients with chronic renal failure. *Home Met Res.*, 28 : 724-727, 1996
- 9) Ostlund, R.E. Jr., Yang, J. W., Klein, S., Gingerich, R., et al. : Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender, diet, age, and metabolic covariates. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 81 : 3909-3913, 1996
- 10) Grinspoon, S., Gulick, T., Askari, H., Landt, M., et al. : Serum leptin levels in women with anorexia nervosa. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 81 : 3861-3863, 1996
- 11) Montague, C.T., Farooqi, I. S., Whitehead, J. P., Soos, M. A., et al. : Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans.

- Nature, 387 : 903-907, 1997
- 12) Chehab, F. F., Lim, M. E., Lu, R. : Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin. Nature Genet, 12 : 318-320, 1996
- 13) Barash, I.A., Cheung, C. C., Weigle, D. S., Ren, H., et al : Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. Endocrinology, 137 : 3144-3147, 1996
- 14) Cioffi, J. A., Shafer, A. W., Zupancic, T. J., Smith-Gbur, Y., et al : Novel B219/OB receptor isoforms : possible role of leptin in hematopoiesis and reproduction. Nature Med., 2 : 585-589, 1996
- 15) Bennet, B.D., Solar, G. P., Yuan, J. Q., Matias, J., et al. : A role for leptin and its cognate receptor in hematopoiesis. Current Biology, 6 : 1170-1180, 1996
- 16) Emorine, L. J., Marullo, S., Briand-Sutren, M. M., Patey, G., et al. : Molecular characterization of the humans  $\beta 3$ -adrenergic receptor. Science, 245 : 1118-1121, 1989
- 17) Walston, J., Silver, K., Bogardus, C. : Time of onset of non-insulin-dependent diabetes mellitus and genetic variation in the  $\beta 3$ -adrenergic-receptor gene. N. Engl. J. Med., 333 : 343-347, 1995
- 18) Fujisawa, T., Ikegami, H., Yamato, E. : Association of Trp 64Arg mutation of the  $\beta 3$ -adrenergic-receptor with NIDDM and body weight gain. Diabetologia, 39 : 349-352, 1996
- 19) Clément, K., Vaisse, C., Manning, B. S. J. : Genetic variation in the  $\beta 3$ -adrenergic receptor and in patients with morbid obesity. N. Engl. J. Med., 333 : 352-354, 1995
- 20) Widén, E., Lehto, M., Kanninen, T., Walston, J., et al. : Association of a polymorphism in the  $\beta 3$ -adrenergic receptor gene with features of the insulin resistance syndrome in Finns. N. Engl. J. Med., 333 : 348-351, 1995