

皮膚依存的な体温調節応答に基づく肥満メカニズム解明

国立国際医療研究センター研究所 分子糖尿病医学研究部

栗澤 元晴

肥満・糖尿病患者数の世界的増加に当たり、肥満の病因解明は現代医療にとって喫緊の課題の一つである。さて従来、個体のエネルギーバランスは、次の方程式で示される様に、食事摂取量とエネルギー燃焼量とによって説明されてきた。

体重 ← 食事摂取 vs エネルギー燃焼・・・・・・・・・・①

ここでエネルギー燃焼とは、基礎代謝、非震え熱産生 (non-shivering thermogenesis) および運動 (筋収縮) に伴うエネルギー消費である。一方ヒトを含む恒温動物 (内温動物) にとっては、これら非震え熱産生と筋収縮とによるエネルギー燃焼とは、熱を産生する主要なプロセスであり、この意味でエネルギー燃焼量は、体温を規定する次の方程式の重要な因子とも見做せる。

エネルギー燃焼 vs 熱放散 → 体温・・②

重要なことに、エネルギーの燃焼が筋肉や褐色脂肪組織など複数の組織で起きるのに対し、個体の熱放散は唯一、皮膚のみによって担われており、これは毛細血管の拡張・収縮や発汗、皮脂の分泌調節などの機能に因っている。恒温動物にとって体温は極めて厳密に制御される必要があり、結果体温調節のシステムは体重調節のシステムよりも優先される (Saito M, *Obes Res Clin Pract*, 2013)。これらの事実は、熱放散の調節器官としての皮膚と、エネルギー燃焼のシステムとは、常に緊密なバランスを取りながら機能しなければならないこと示唆する。すなわち、このような皮膚の熱放散調節・適応応答及びその破綻が、代謝調節及び体重増加を含めた代謝障害の制御因子となると同時に、熱放散へのインターベンションが全身の代謝を変化させる可能性が示唆される。

この仮説の妥当性は皮膚附属器の機能に重要な分子 Ectodysplasin A が肥満で増加することからも裏付けられるが (Awazawa M et al., *Nat Med*, 2017)、実際にこれまで、例えば皮膚特異的な Cidea 欠損マウスなど、皮脂腺の機能異常を来すマウスモデルでは、体温調節機構が破綻していることが報告されている (Zhang S et al., *Mol Cell Biol*, 2014)。また Scd1 欠損マウスの解析では、皮脂分泌機能の低下が実際に体重調節に影響することが報告されている (Sampath H et al., *J Biol Chem*, 2009)。更に近年、強力な代謝関連ホルモンであるレプチンが皮膚血管の収縮・拡張を制御していることも報告されている (Fisher WF et al., *Cell Rep*, 2017)。

本研究では皮膚の熱放散へのインターベンションが、エネルギー燃焼の変化、あるいは全身の代謝異常に対する治療効果をもたらす可能性を検討することとした。

1、皮膚血管拡張薬の選定

皮膚は外界に露出した臓器であるため、非侵襲的な方法で機能測定・介入ができるというメリットがある。また皮膚機能の計測手法はそれぞれ確立しており、また計測機器 (赤外線サーモグラフィ、レーザー血流系など) も小型であることから直ちに実施可能である。特にマウス尾部は体毛が無くかつ血流が豊富なため、マウス全体の熱放散の 20% を担うとされ、その皮膚温変化が皮膚応答の良い指標となると同時に (Meyer CW et al., *Front Physiol*, 2017)、インターベンションの部位としても適している。

一方で、薬剤の全身投与を行った場合は、全身臓器への血流が変化することにより皮膚の変化により虹的に起きた現象と、各全身臓器への薬剤の直接的な効果とを判別することが困難となる。

これらを踏まえて、皮膚血管の拡張作用を持ちうる薬剤の選定を行った (右表)。この中から、継続投与による持続的な皮膚血管拡張作用を持つことを念頭に、肺高血圧の治療薬として用いられるプロスタサイクリンアナログであるイロprost Iloprost Natrium (商品名 Ventavis®) を第一選択と

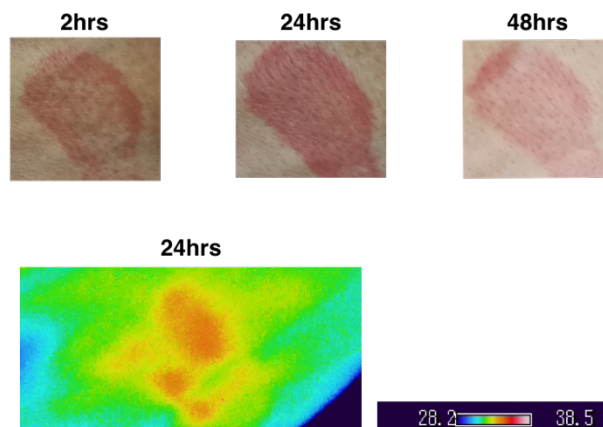
PGE1 analogue	ED治療薬
PGI1 analogue	SM10902(住友製薬), 開発中止
PGI2 analogue	Iloprost (肺高血圧治療薬)
Nicotinate	Wärme-Gel
CGRP	皮内注射、炎症作用
Papaverine	アルカロイド
Kallidinogen	全身の血管に影響
Trinitrate	強皮症の治療薬、持続時間0.5-6hr 開発中止
Aminophylline	ED治療薬

し、予備検討を行うこととした。

Iloprost は過去の文献から皮膚に塗布した場合、24 時間以上にわたって皮膚の血管拡張反応及び皮膚温の上昇が認められるとの報告がある (Drury JK et al., 1985)。このことを実証する目的で、Iloprost をエタノールに溶解し (1mg/ml)、実際に健常者の手背皮膚に 3cm² にこれを塗布、被覆の上 20 分後に wash out し、その後経時的に皮膚の外観およびサーモグラフィーによる皮膚温の観察を行った。この結果、実際にイロプロスト塗布直後の皮膚では外観、皮膚温ともに変化を認めなかったが、2 時間後には塗布部の紅潮が認められ、24 時間には実際に皮膚温の上昇を確認、この反応は少なくとも 48 時間持続した (図 1)。以上から、皮膚血管拡張薬としてイロプロストを選択した。マウスの尾部皮膚の表面積を見積もり、Iloprost natrium 1mg/ml を 200 μ l/body を野生型マウスの尾部全体に塗布の上、20 分間被覆するプロトコルとし、持続時間を少なくとも 48 時間と見積もり、隔日投与を 2 週間に渡って行うこととした。

図 1

ヒト手背部皮膚

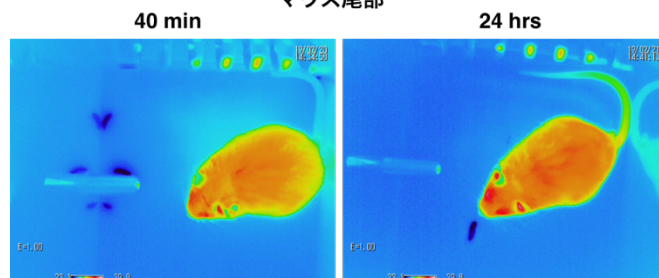


2、Iloprost 塗布後の皮膚及び代謝関連パラメータの観察

野生型マウス尾部に Iloprost を塗布したところ、ヒト手背同様 24 時間後に皮膚温の上昇が確認された (図 2)。その後隔日に塗布を継続し、2 週間に渡って摂食量、体重の経過を観察後、マウスを随時摂食下で各種代謝関連パラメータを計測、屠殺の上組織を採取し、各種遺伝子発現の変化を観察した。

図 2

マウス尾部



Iloprost 投与開始後の経時的な摂食量及び体重の変化を図 3 に示す。Iloprost natrium 200 μ g の野生型マウス尾部への塗布により、2 週間の経過で摂食量や体重にコントロールの EtOH 塗布群と

図 3

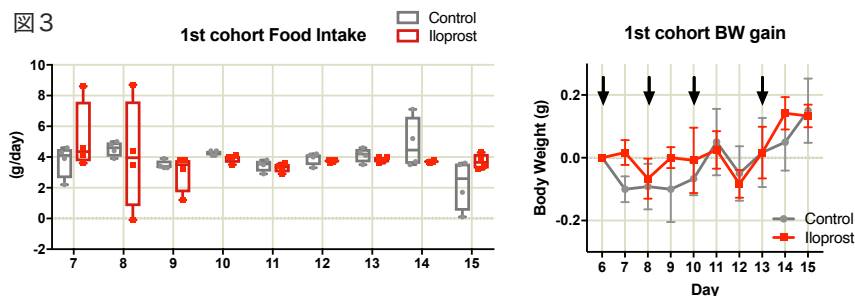
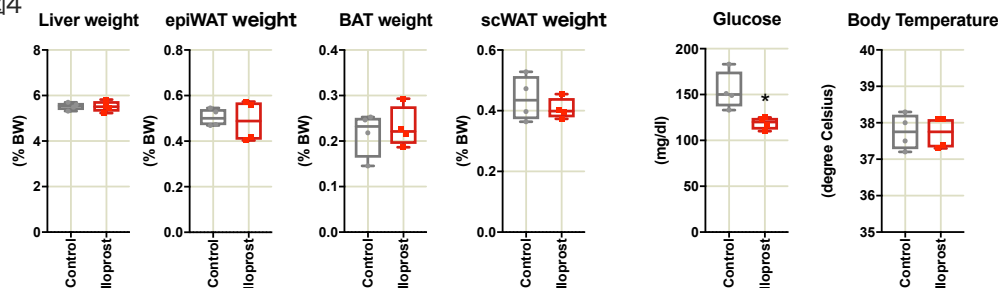


図 4



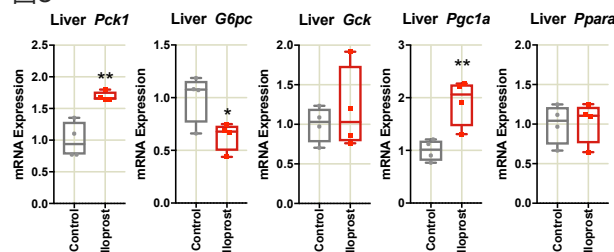
与群でコントロール群と比して有意な低下を示した (図 4)。

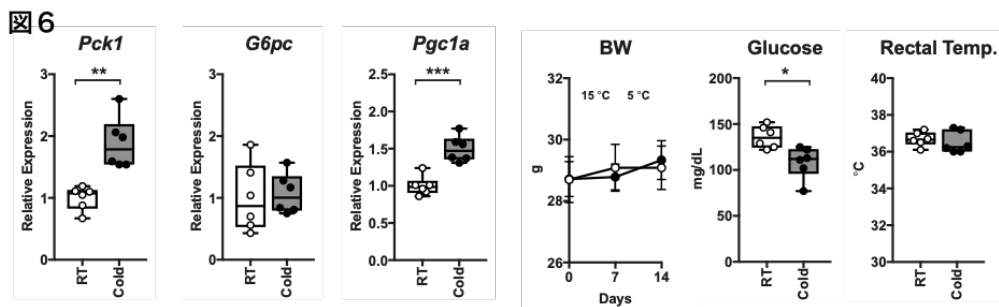
そこで、採取した肝臓から mRNA を抽出し、糖脂質関連遺伝子の発現を調べた (図 5)

すると代表的な糖新生系の制御遺伝子である *Pck1* と *G6pc* との発現には逆方向ではあるがそれぞれ有意な差を Iloprost 投与群とコントロール群との間に認めた。また、同じく糖新生の制御に深く関わることが知られる *Pgc1a* の遺伝子発現は、

比して差は認められなかった。そこで投与開始 15 日目にマウスをと殺し、各種パラメータを観察した。主要なインスリン標的組織の組織重量には Iloprost 投与群とコントロールの EtOH 投与群との間に差を認めなかった。一方で、興味深いことに随時血糖は Iloprost 投

図 5



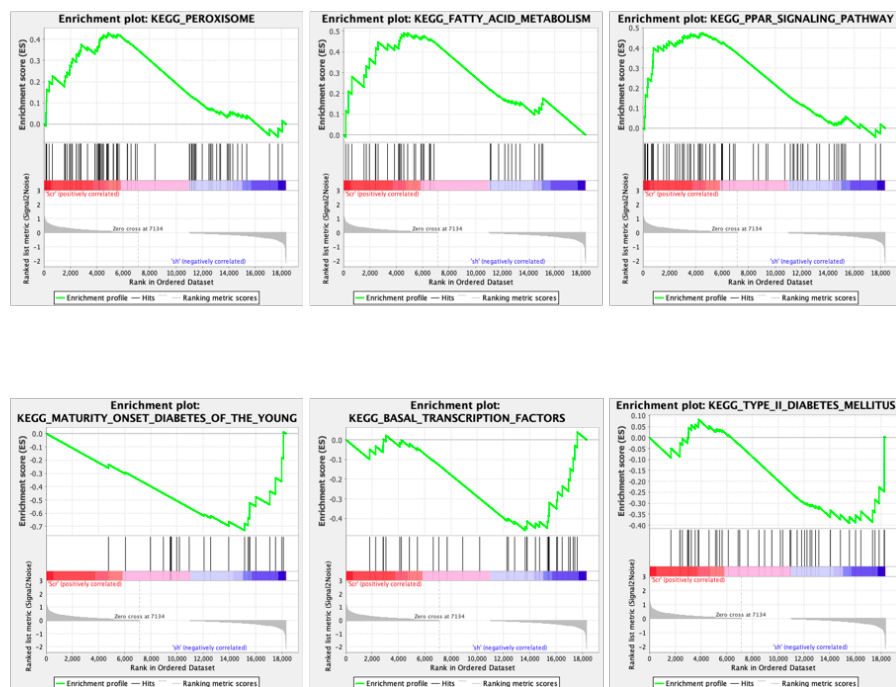


境下に置いた場合に認められる変化と非常に似通ったものであり（自検例。図6）、Iloprostの投与が実際に皮膚温の上昇と熱放散の亢進を介して全身の代謝を変化させた可能性が示唆された。

更にこの様な肝臓の遺伝子変化、血糖変化のメカニズムを調べるために、褐色脂肪組織、白色脂肪組織及び骨格筋において、エネルギー燃焼系、脂肪代謝系に関わる主要な遺伝子の発現を比較した。すると、Fgf21, Pgc1a, Ucp1 やその遺伝子発現が低温環境下にて変化することが知られる骨格筋 *Hk2* や *Pfkm* 遺伝子発現には、コントロール群とイロプロスト投与群との間に有意な変化を認めなかった。このことから、Iloprostの投与が他臓器を介さずに直接肝臓の遺伝子発現を変化させると共に血糖が低下した可能性が示唆された。

3、Iloprost 2週間塗布後の肝臓の網羅的遺伝子発現解析

図7



遺伝子群には Maturity onset diabetes of the young, diabetes mellitus が有意に関連づけられていた（図7）。

4、今後の展望

今回我々は血管拡張薬の皮膚への塗布が、マウスにおいて血糖及び肝代謝関連遺伝子変化を誘発することを観察した。近年糖代謝の制御においては多臓器間のクロストークの重要性が認識されつつあり、その複雑さが癌研究と比して糖尿病研究を困難にしている一つの原因となっている。皮膚は表面積としては腸管に次いで大きな臓器であるにもかかわらず、皮膚が代謝において積極的に果たしうる役割については殆ど解明されていない。今回のパイロット研究を踏まえ、今後皮膚から代謝調節に至る経路を time course の観察、遺伝子発現及びエネルギー燃焼量の測定、神経遮断、thermoneutrality 下での検討などを通じて明らかにしたいと考えている。

Iloprost 投与群において有意に増加していた。

実はこのような血糖の変化や肝臓における遺伝子発現の変化は、マウスを低温環

次に我々は

Iloprost 投与により肝臓で生じた遺伝子変化を網羅的に解析する目的で、肝臓のトランスクリプトーム解析を行った。

Iloprost 群で有意に低下している遺伝子群に Peroxisome, Fatty acid metabolism, PPAR signaling pathway が enrich されており、一方で Iloprost 群で増加している遺