

骨格筋における脂肪酸伸長酵素 Elovl6 の役割

板倉 晃希 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 島野 仁 (筑波大学 医学医療系)

背景および目的

近年、生活習慣病患者数は増加の一途をたどっており、早急に有効な予防・治療法が求められている。生活習慣病の多くにインスリン抵抗性が見られ、この原因としては脂肪の過剰蓄積による脂肪毒性が引き金となり、インスリンシグナルを阻害すると考えられている。これらのことから、生活習慣病の改善には蓄積する脂質の「量」の変化が着目されてきたが、脂質の「質」の変化にはあまり着目されてこなかった。

本研究室では脂肪酸、トリグリセリド(TG)、コレステロール(Cho)の合成を制御する転写因子である Sterol regulatory element-binding protein (SREBP)の標的遺伝子として、脂肪酸伸長酵素 Elongation of very long chain fatty acids member6 (Elovl6) をクローニングし、本酵素が炭素数 12-16 の飽和・一価不飽和脂肪酸を基質とする長鎖脂肪酸伸張酵素であり、炭素数 18 以上の長鎖脂肪酸の合成に重要なリポジェニック酵素であることを明らかにした^[1]。

そして Elovl6 全身欠損マウスの作製・解析により、欠損マウスでは炭素数 16 以下の脂肪酸の増加、炭素数 18 以上の脂肪酸の減少、不飽和/飽和脂肪酸比の増加など、様々な脂肪酸組成の変化が見られ、その結果、エネルギー代謝関連遺伝子の発現が変化し、食事負荷や肥満モデルマウス (ob/ob マウス) との交配により肥満や脂肪肝が生じるが、良好な耐糖能・インスリン感受性が示されることを明らかにした^[2]。しかし肝臓特異的 Elovl6 欠損マウスの作製・解析により、欠損マウスでは炭素数 16 以下の脂肪酸の増加、炭素数 18 以上の脂肪酸の減少など、脂肪酸組成の変化は見られるが、食事負荷によるインスリン抵抗性の改善が示されないことから、他の組織における Elovl6 の働きがインスリン抵抗性の改善に関わっている可能性が示唆された。

そこで本研究ではインスリン抵抗性に大きく関わる主な組織の脳・肝臓・骨格筋の中でも骨格筋に着目し、骨格筋における Elovl6 の働きを解明することを目的として解析を行った。

材料および方法

マウス

Human alpha skeletal actin (Acta1) をプロモーターとして Cre recombinase を発現する Acta1-Cre Tg マウスと Elovl6 floxed マウスを交配し、骨格筋特異的に Elovl6 が欠損した Elovl6^{flox/flox}, Acta1-Cre^{+/+}マウス(以降 MKO マウス)を作製し、その対照として Elovl6^{flox/flox}, Acta1-Cre^{-/-}マウス(以降 flox マウス)を用い、実験を行った。

1. Elovl6 による筋障害の確認

6 週齢および 6 ヶ月齢の flox および MKO マウス(雌雄両方)で眼窩採血を行い、得られた全血から血清を分離し CPK 測定(富士ドライケム)を行った。そして雄マウスのみ解剖し前脛骨筋を摘出しホルマリン溶液で固定し、ヘマトキシリン・エオジン染色(HE 染色)を施し、顕微鏡で観察を行った。

2. 血清パラメーターの測定

7~9 週齢の flox および MKO マウス(雌雄両方)で眼窩採血を行い、得られた全血から血清を分離し、血糖値・TG・総コレステロール(T-Cho)・HDL コレステロール(HDL-Cho)・GOT・GPT の測定(和光純薬キット)を行った。

3. ①インスリン負荷試験 ②経口グルコース負荷試験

①8~10 週齢の flox および MKO マウス(雌雄両方)にインスリンを腹腔内投与し、0, 15, 30, 60, 90, 120 分に尾静脈から血液を採取し簡易血糖測定器で測定を行った。

②12 週齢の flox および MKO マウス(雌雄両方)にグルコースを経口投与し、0, 15, 30, 60, 90, 120 分で眼窩採血を行い、得られた血清を用いて 2 と同様に血糖値を測定した。

4. ①ロータロッドテスト ②トレッドミルテスト

①8 週齢の flox および MKO マウス(雌雄両方)を加速するロッドの上に乗せ、落下するまでの時間を測定した。これを 1 試行とし、1 日 3 試行を 3 日間行い、計 9 試行の測定を行った。

②8~10 週齢の flox および MKO マウス(雌雄両方)を加速するベルトコンベアの上に乗せ、スピードに追い付けなくなるまでの時間を測定し、走行距離を算出した。雄に関しては 16 週齢の flox および MKO マウスでも測定を行った。

結果および考察

1. 血清測定および病理診断からも Elovl6 による筋障害は確認されず、加齢に伴う筋障害も確認されなかった。

2. 雌雄両方の全ての血清パラメーターにおいて flox-MKO マウス間で有意差は確認されなかった(t 検定法による)。

3. ①・②雌雄両方の全ての測定時間において flox-MKO マウス間で有意差は確認されなかった(t 検定法による)。

4. ①雌雄両方の全ての試行において flox-MKO マウス間で有意差は確認されなかった(t 検定法による)。

②雌雄両方の走行距離において flox-MKO マウス間で有意差は確認されなかった(t 検定法による)。

これらのことから骨格筋において Elovl6 が関与している可能性は大変低いと示唆され、他の組織での Elovl6 の働きが重要であると考えられる。

引用文献

[1] Matsuzaka et al. (2002) *J Lipid Res.* 43:911-920

[2] Matsuzaka et al. (2007) *Nat Med.* 13:1193-1202