

脂肪細胞を介したカルシトニンの新しい機能

New function of calcitonin mediated by adipocytes

中村 美砂^{1) 2)}

¹⁾ 大阪河崎リハビリテーション大学：大阪府貝塚市水間 158 番地（〒 597-0104）

²⁾ 大阪河崎リハビリテーション大学 認知予備力研究センター

Misa Nakamura^{1) 2)}

¹⁾ *Osaka Kawasaki Rehabilitation University : 158 Mizuma, Kaizuka-city, Osaka 597-0104, Japan*

²⁾ *Cognitive Reserve Research Center, Osaka Kawasaki Rehabilitation University*

要旨:カルシトニン(CT)は、1961年にCoppらにより副甲状腺ホルモンに次ぐ第二のカルシウム調節ホルモンとして発見された。CTは甲状腺のC細胞で産生、分泌されるペプチドホルモンで、主たる作用は破骨細胞に直接作用してその機能を抑制することが知られている。CTは、骨粗鬆症の治療薬や甲状腺髄様癌のマーカーなどを中心に臨床応用されている。近年、CTが骨代謝のみならず、脂肪細胞でのアディポカインの一つであるアディポネクチンの分泌を減少させ、グルコースおよび脂質代謝の調節に関与することが実証されたので、これらをCTの新しい機能として紹介する。

キーワード:カルシトニン；脂肪細胞；アディポネクチン；肥満

Key words: calcitonin; adipocyte; adiponectin; obesity

¹⁾ 中村 美砂 Misa Nakamura

E-mail : nakamuram@kawasakigakuen.ac.jp

受付日 2019年7月3日 受理日 2019年8月8日

Receive Jul. 3, 2019. Accepted Aug. 8, 2019.

背景

CTは従来、骨の破骨細胞に働き、その活性を抑制することで、血中のカルシウムレベルを低下することが言われてきた。その一方で高濃度のCTをラットに投与すると、コレステロールや中性脂肪の血中濃度が低下することや、肥満者では血中CTレベルが高いことが報告されている。これらの報告は、CTが糖・脂質代謝に関与していることを示唆している。しかしながら詳細な機序はわかっていない。そこで著者らは、CT遺伝子のエクソン4を欠損したCT欠損(CTKO)マウスを作出し、その表現型と血中の代謝マーカーの濃度、さらにin vitroにおけるCTの代謝物質産生への効果について明らかにした。本稿では、CTKOマウスの特性を中心に、関連する報告を織り交ぜてCTの新しい機能について解説する。

1. CT遺伝子欠損(CTKO)マウスは、高脂肪食摂取による肥満を回避する

1.1 体重

高脂肪食下で飼育した10ヶ月齢までの体重は、コントロール(WT)マウスとCTKOマウスの間で有意差はなかった。しかしながら、15および19ヶ月齢のKOマウスの体重は、WTマウスのものより有意に低かった(図1. A)。また、1日あたりのエネルギー摂取量においてWTとKOマウスとの間で有意差を認めなかった¹⁾。これらの結果は、CT KOマウスは老年期の肥満に抵抗性であり、これはカロリー摂取量の減少によるエネルギーの不均衡とは無関係であることを示唆していた。

以前に著者らは、CT受容体(CTR)の遺伝子多型がヒトの体重を調節する遺伝因子の一つであることを報告した²⁾。白木らは、体格指数(BMI)が高い高齢者において血清CT値が高いことを報告している³⁾。ラットの血中CT濃度は加齢とともに増加し⁴⁾、遺伝性肥満ラットは、やせた同腹仔と比較して変化していないか、またはより高いCT遺伝子の発現を有する。さらにCT遺伝子の発現は12週齢のラットでは大きな変化がないが、10ヶ月齢の肥満ラットで明らかに高いことも報告されている⁵⁾。これらの結果は上述したCTKOマウスの結果を強く支持するものであり、体重調節に関連したCTの機能が老年期において主に発揮されることを示唆している。

1.2 CTKOマウスの各種組織の特徴および血中における脂質量

WTマウスとKOマウスの間、肝臓、膵臓、脾臓、腎臓に肉眼的な違いは見られなかった。19ヶ月時点でのKOマウスの臓器の体重は、内臓脂肪、肝臓、および腎臓重量が、WTマウスと比較して有意に減少していた。WTマウスにおける内臓脂肪含有量は、KOマウスよりも2倍

高かった。肝組織では、肝細胞中の脂肪滴のサイズの増加がWTマウスで観察されたのに対し、KOマウスでは有意に減少していた。WTマウスと比べてKOマウスでは、白色脂肪組織中の脂肪細胞のサイズは小さく、褐色脂肪組織では、小さい脂肪滴が観察された(図1. B)。一方、膵島の大きさやインスリン陽性細胞とグルカゴン陽性細胞の数の2種のマウスの間で違いは見られなかった。

マウスの血清または肝臓中の脂質量を絶食後に測定した結果、トリグリセリド、NEFA、および総コレステロールの血中レベルは、WTマウスに比べてKOマウスは有意に低かった。肝組織では、遊離コレステロールおよび総コレステロールのレベルは、KOマウスで有意に低く、これは肝細胞において観察された脂肪滴の結果と一致している¹⁾。

以上の結果は、老齢CT KOマウスにおいてはCTの欠損が肝臓の脂質代謝に大きな影響を与えることを強く示唆している。肝臓の脂質の蓄積は肥満と関連しており、非アルコール性脂肪性肝疾患、最終的には非アルコール性脂肪性肝炎を引き起こす可能性がある⁶⁾。いくつかの報告は、肝細胞機能の調節におけるCTの生理学的役割を支持しており、具体的にはラット肝細胞の原形質膜にはCTRが存在し⁷⁾、ラットにCTを投与すると肝臓の脂肪酸合成が促進されることが報告されている⁸⁾。これらの結果は、CT KOマウスで見られた肝臓の脂肪含有量の減少に関する著者らの知見を裏付けている。

2. CTKOマウスは、血中アディポネクチンレベルが高い

レプチンおよびTNF- α のように、アディポネクチンは脂肪組織で特異的かつ豊富に発現されるアディポカインの一種であり、抗炎症、抗アテローム、抗高脂血症などを示す。アディポカイン(腫瘍壊死因子(TNF- α)およびアディポネクチン)の血中レベルをWTとKOマウスとの間で比較した結果、TNF- α レベルは、有意な差はなかった。対照的に、アディポネクチンレベルは、KOマウスにおいて有意に高かった(図1. C)¹⁾。遊離脂肪酸は内臓脂肪から放出され、肝臓に運ばれ、脂肪肝および非アルコール性脂肪性肝炎発症の一因となる^{9)・10)}。アディポネクチンは、肝臓内の過剰な脂質貯蔵に拮抗し、炎症および線維症から保護する作用がある¹¹⁾。血中のアディポネクチン濃度は血中HDLコレステロール濃度にも直接関係しており、血中トリグリセリド濃度に反比例している¹²⁾。さらに、アディポネクチンは体重減少とともに増加し、BMIと負の相関関係のあることが報告されている^{13)・16)}。これらの結果から、本研究で明らかにされたKOマウスにおける血中脂質濃度および肝臓における脂質蓄積の減少は、高濃度の血中アディポネクチンが関与していることが推察された。

3. CTKO マウスは、血中グルコース濃度を低下させ、インスリン感受性を促進する

KO マウスの血中グルコースレベルは WT マウスと比較して有意に減少し、血清インスリンレベルは両者の間で有意差はなかった¹⁾。正常および甲状腺/副甲状腺摘出ラットに CT を投与すると血糖値が上昇することが報告されている¹⁷⁾。インスリン負荷試験 (ITT) において KO マウスでは WT マウスに比べ有意な血糖値の低下が認められ¹⁾、これは、KO マウスにおける血糖値上昇の抑制がインスリン感受性の増加に起因することを示唆している。アディポネクチンは、脂質以外にグルコースの恒常性にも関与するインスリン感受性のアディポカインである^{18),19)}。一方、骨格筋では、アディポネクチンはグルコーストランスポーター 4 単独、またはインスリンの効果と組み合わせてグルコースの取り込みを高める^{20) 21)}。以上の結果より、KO マウスにおける高濃度のアディポネクチンがインスリン感受性の増加を通して血糖レベルに影響を与えたことが示唆された。

4. CT は培養細胞 3T3-L1 の脂質の蓄積を促進し、アディポネクチン産生を抑制する

脂肪細胞へ分化するマウス線維芽細胞由来 3T3-L1 細胞を用いて、*in vitro* での脂肪細胞分化に対する CT の効果を明らかにした。3T3-L1 細胞を 10^{-12} 、 10^{-10} 、 10^{-8} 、 10^{-6} M

の CT で処理した後に細胞中の脂質含有量および培地中のアディポネクチン量を測定した。その結果、脂質含有量は、全ての濃度の CT 群においてコントロール群より有意に高く、特に 10^{-8} MCT において最も高かった (図 1. D)。アディポネクチンレベルは、 10^{-12} M および 10^{-10} M の CT 群において、コントロールよりも有意に低かった¹⁾。これらの結果は、生理的濃度の CT が 3T3-L1 細胞において脂質含有量を増加させ、アディポネクチン産生を減少させることを示唆する。

脂肪細胞における分化とアディポネクチン産生の間の関係を報告した研究がいくつかある。アポリポタンパク質 E (ApoE) は脂肪組織で高度に発現されており、脂質の蓄積と脂肪細胞の分化に重要な役割を果たす²²⁾。脂肪組織特異的に ApoE 発現を抑制したマウスでは、脂肪組織が少なく、脂肪細胞におけるトリグリセリド合成が著しく損なわれている一方で、アディポネクチンレベルが上昇していることが報告されている²³⁾。これらの結果は脂肪組織が少なく、血中や肝組織中の脂質量が低下しているマウスにおいてアディポネクチンレベルが上昇していたという上述の CTKO マウスの結果を反映している。また、Brunn らは、*in vivo* での血中アディポネクチンレベルとサイトカインレベルは逆相関していること、脂肪組織および 3T3-L1 細胞においてサイトカイン依存的にアディポネクチンが低下することから、内因性サイトカイン (例えば、TNF- α やインターロイキン-6) がアディポネクチンの発現を阻害し得ることを提言している^{24) 25)}。

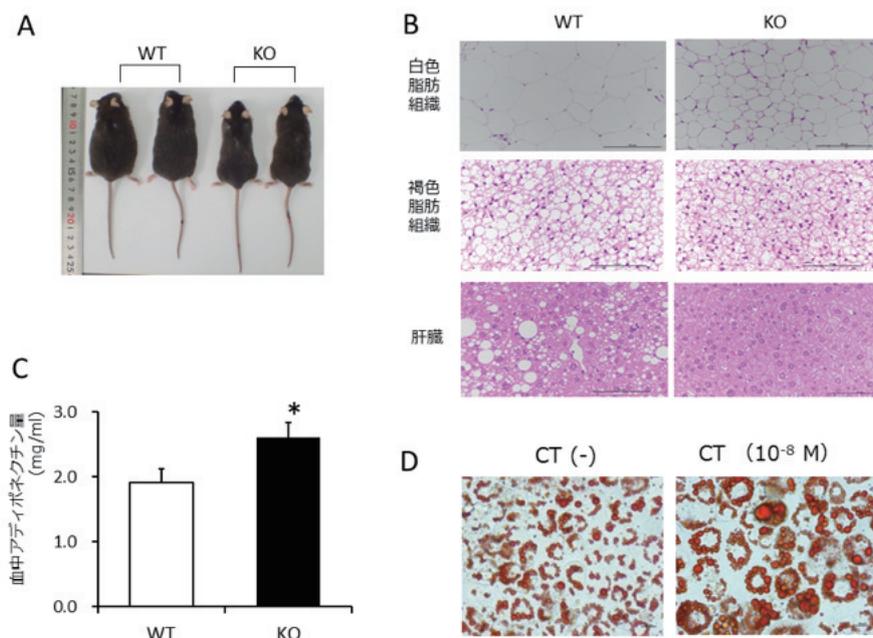


図 1. A. 19 ヶ月齢の WT および KO 雄マウスの外観。平均体重、WT vs. KO; 45.80 ± 1.60 g vs. 34.72 ± 1.55 g ($p < 0.01$) (16 匹/グループ)。B. WT および KO マウスの腹腔内白色脂肪組織、肩甲骨間褐色脂肪組織、肝臓の組織学的形態像 (ヘマトキシリン・エオシン染色)。C. 16 時間絶食した WT および KO マウスの血中アディポネクチン濃度 (7 匹/グループ)。* $p < 0.05$ 。D. 分化した 3T3-L1 細胞のオイルレッド O 染色像。赤く染色されているのは細胞内の中性脂肪。(文献 1) より改変)

CTは、これらのサイトカインと関係して脂肪細胞におけるアディポネクチン発現を阻害しているのかもしれない。今後はCTと脂肪細胞のアディポネクチン産生に関するさらなる解明が必要である。

まとめ

CTは、老齢マウスにおいて脂肪細胞からのアディポネクチン分泌を減少させ、グルコースおよび脂質代謝に寄与し得ることが実証された。これらの新しい知見により、今後はCTを標的とした肥満治療への適用が期待される。CTは、脊椎動物より下等な原索動物においても存在することや、魚類でのCTの活性は非常に高く、哺乳類では低いことが報告されている。そもそも陸上生活を行なう私たち哺乳類は、血中のカルシウムレベルを下げることはあまり必要ではなく、副甲状腺ホルモンに比べて生体内でのCTの活躍の場は少ない。ヒトのCTは、進化過程での残骸であるという考え方も存在する。しかしながら上述したCTの新しい機能の発見は、食糧の少なかった古い時代にCTが十分な機能を発揮していた可能性を想像させる。

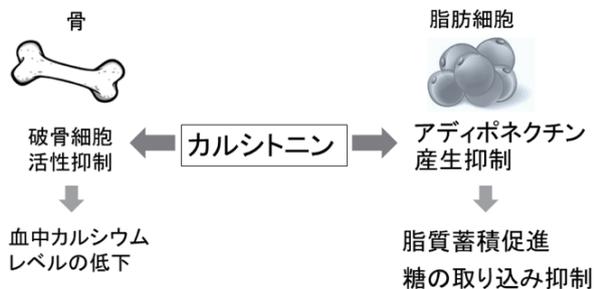


図2. CTの機能の概略

参考文献

- 1) Nakamura M, Nomura S, Yamakawa T, et al. : Endogenous calcitonin regulates lipid and glucose metabolism in diet-induced obesity mice. *Sci Rep.* 2018;19:17001.
- 2) Nakamura M, Morimoto S, Zhang Z, et al. : Calcitonin receptor gene polymorphism in Japanese women: correlation with body mass and bone mineral density. *Calcif Tissue Int.* 2001;68:211-215.
- 3) Shiraki M, Ito H, Fujimaki H, et al. : Relation between body size and bone mineral density with special reference to sex hormones and calcium regulating hormones in elderly females. *Endocrinol Jpn.* 1991;38:343-349.
- 4) Roos BA, Cooper CW, Frelinger AL, et al. : Acute and chronic fluctuations of immunoreactive and biologically active plasma calcitonin in the rat. *Endocrinology.* 1978;103:2180-2186.
- 5) Segond N, Tahri EH, Besnard P, et al. : Calcitonin mRNA activity in genetically obese rats. *Biomed Pharmacother.* 1986;40:207-214.
- 6) Wanless IR, Shiota K: The pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis and other fatty liver diseases: a four-step model including the role of lipid release and hepatic venular obstruction in the progression to cirrhosis. *Semin. Liver Dis.* 2004;24:99-106.
- 7) Yamaguchi M, Ito M: Specific binding of calcitonin to rat liver plasma membranes. *Endocrinol Jpn.* 1984;31:327-333.
- 8) Yamaguchi M, Momose K, Takahashi K, et al. : Stimulatory effect of calcitonin on fatty acid synthesis in the liver of fed rats. *Horm Metab Res.* 1985;17:346-350.
- 9) Schäffler A, Schölmerich J, Büchler C : Mechanisms of disease: adipocytokines and visceral adipose tissue-emerging role in nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol.* 2005;2:273-280.
- 10) Jensen MD : Role of body fat distribution and the metabolic complications of obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:S57-63.
- 11) Buechler C, Wanninger J, Neumeier M : Adiponectin, a key adipokine in obesity related liver diseases. *World J Gastroenterol.* 2011;17:2801-2811.
- 12) Zoccali, C, Mallamaci F, Tripepi G, et al. : Adiponectin, metabolic risk factors, and cardiovascular events among patients with end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13:134-141.
- 13) Arita Y, Kihara S, Ouchi N, et al. : Paradoxical decrease of an adipose specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999;257:79-83.
- 14) Yang WS, Lee WJ, Funahashi T, et al. : Weight reduction increases plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin. *Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:3815-3819.
- 15) Esposito K, Pontillo A, Di Palo C, et al. : Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women: a randomized trial. *JAMA.* 2003;289: 1799-1804.
- 16) Klok MD, Jakobsdottir S, Drent ML : The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: a review. *Obes Rev.* 2007;8:21-34.
- 17) Yamaguchi M, Yamamoto T : Effects of insulin and calcitonin on the levels of serum calcium and glucose in rats. *Chem Phar Bull (Tokyo).* 1977;25:2785-2787.
- 18) Kubota N, Terauchi Y, Yamauchi T, et al. : Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal formation. *J Biol Chem.* 2002;277:25863-25866.
- 19) El Husseny MW, Mamdouh M, Shaban S, et al. : Adipokines: Potential therapeutic targets for vascular dysfunction in type II diabetes mellitus and obesity. *J Diabetes Res.* 2017;2017:8095926.
- 20) Bell G, Kayano T, Buse JB, et al. : Molecular biology of mammalian glucose transporters. *Diabetes Care.* 1990;13:198-

-
- 208.
- 21) Larance M, Ramm G, James DE : The GLUT4 Code. *Mol Endocrinol.* 2008;22:226-233.
- 22) Huang ZH, Reardon CA, Mazzone T : Endogenous ApoE expression modulates adipocyte triglyceride content and turnover. *Diabetes.* 2006;55:3394-3402.
- 23) Huang ZH, Reardon CA, Getz GS, et al. : Selective suppression of adipose tissue apoE expression impacts systemic metabolic phenotype and adipose tissue inflammation. *J Lipid Res.* 2015;56:215-226.
- 24) Bruun JM, Lihn AS, Verdich C, et al. : Regulation of adiponectin by adipose tissue-derived cytokines: in vivo and in vitro investigations in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003;285:E527-533.
- 25) Fasshauer M, Klein J, Neumann S, et al. : Hormonal regulation of adiponectin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002;290:1084-1089.