

2011年11月14日  
株式会社サイクレックス

## 2 型糖尿病と FABP4

### ノックアウトマウスのお話

ここ十数年、生命科学の研究では、ノックアウトマウスを作製し、その表現形を解析することが流行っています。その結果が所謂 CNS (Cell, Nature, Science です。Central Nervous System ではありません。) と呼ばれるトップジャーナルに掲載されるか否かは、ほとんどの場合、その研究者の前世の行いが良かったかどうかで決まってしまうようです。つまり、運が悪い人には、残念ながらマウスが生まれてきません。めでたくこの難関を乗り越えマウスが誕生したとしても、顔・身体つきが全く野生型のマウスと同じで、元気そのもの、ピンピンしていると、一生懸命、何か野生型のマウスと違うところがある筈だとマウスを手にとって、ひっくり返したり、撫でたりして、調べることになります。まず、手始めに各臓器の組織に違いはないか調べると偉い人から厳命が下ります。でも、多くの場合、ノックアウトマウスを作って、その遺伝子の機能を解析しようという人は、マウスの組織など見たこともなく、偉い人の知り合いを頼って、偉そうな病理の専門家を紹介してもらい、共同研究でお願いしますと申し出て、組織の検査を依頼します。場合によってはレントゲン写真を取ったりもします。生理的な違いはないかと、やはり偉そうな生理学の専門家にも教えを請いに行きます。山勘で関連がありそうな種々のサイトカインやホルモン、更に血清タンパク質の量に違いはないかと手当たり次第に様々なキットを買い込み、今まで一度としてマトモに読んだ事のないキットの能書に目を通し、今まで見たことも聞いたこともないキットを用いて一生懸命、悪戦苦闘しながら測定します。ひょっとして何か行動がおかしいのではないかと、やはり動物行動学者にも共同研究を持ちかけます。でも運が悪い人は何をやっても上手くゆかないもので、何もかも野生型のマウスと同じで、何も違いは見つかりません。このような場合、似た機能を持つ遺伝子または直ぐ下流の遺伝子が、ノックアウトした遺伝子の機能を相補しているから異常がでない可能性が高い、という最も都合の良い解釈とそれに伴ういたづらに長い講釈を、偉い人から肩をたたかれながら受け賜ったりします。「そんなこと俺だって考え付くわ。この俺の3年間を返してくれ！」と胸の内で叫んでみても、虚しさだけが残ります。

Redundancy (冗長性)、この言葉は、この業界では最も万人に受け入れられる免罪符です。ここ十数年、ノックアウトマウスを作製することは必要だが、科学とは言い難いと言って、専門の業者に依頼することが多くなりました。また、アメリカなどでは、大学にノックアウトマウスを作製する facility を持っているところも少なくありません。そんな労働に3年間も費やしたのに、出てきたのは、ピンピンしている何の病気にもならないマウスだけ。運が悪いだけでは納得できないものを感じます。「Redundancyなんて糞くらえ！」と叫びたいのも十分に理解できます。ボスだって少なくない研究費を工面して、ノックアウトマウス作製のプロジェクトを進めて、興味深い表現形を解析して、この遺伝子の生体内での新たな機能を見出した論文を CNS に掲載するというサクセスストーリーを夢

みていたものの、表現形が出なければ、すべてはくたびれ損となるわけです。それでも、ノックアウトマウス由来のMEF (Mouse embryonic fibroblast) を用いて引き続きできる仕事のネタにはなる訳ですから、あまり悲観しても仕方がありません。でも素直に表現形が出てくれた方が良いに決まっています。そもそもノックアウトマウスを作製することは、即ち、延べ何百匹というマウスを交配・維持することでもあります。少ない研究費でアップアップの研究室では当然無理な話です。運のない人はノックアウトマウス作製のプロジェクトを遂行できる研究室に在籍できたことを幸せと考えなければいけません。金を調達できる力量をもったボスに感謝すべきことなのかも知れません。問題はたった1つ、あなたの運が悪いことだけです。

一方で、手がけたすべてのノックアウトマウスに興味深い表現形が現れるという幸運に恵まれた人もおります。皆は彼のことを God hand を持つ男と誉めそやしました。発掘したすべての遺跡から、石器や土器などの貴重な品を見つけるという離れ業を行った God hand を持つ男といわれたインチキ考古学者がその昔、話題になりましたが、そのいかがわしい考古学者と同じくらい、いやそれ以上のインパクトをこの業界の人に与えるようなノックアウトマウスを次々と作出し、トップジャーナルに報告してきた人です。ジーンターゲットングの黎明期ではありましたが、大したものです。皆、彼はサイエンスのセンスが良いとか言っておだて上げていましたが、やはり「運が良い」というのが最も適当な表現なのでしょう。

ある遺伝子のノックアウトマウスは特徴的な行動異常という表現形を示したという論文をトップジャーナルに掲載したものの、他の複数の研究グループが独立に同じ遺伝子のノックアウトマウスを作製したが、行動異常という表現形が全くでなかったことから、この業界から抹殺されかかっている研究者もいらっしやるという話もあります。目に見えない表現形が幻のように見えてくる研究者の精神状態を研究する方が面白そうな気がします。以上、ノックアウトマウスに関する悲喜こもごもを前説にしましたが、少し長くなりましたので本題に入ります。

#### FABP4

さて、FABP4 についてですが、前説にありますように、この遺伝子のノックアウトマウスの表現形が焦点になります。このノックアウトマウスはスクスクと元気に育って(発生的に何も問題がなく)、一見、野生型のマウスと何の変わりもありませんでした。もともと脂肪細胞特異的脂肪酸結合タンパク質と呼ばれていることから、脂質代謝の重要な調節因子であろうことは予想されていましたので、高カロリー餌を与えたら、何か野生型のマウスと違ったところが出てくるだろうと考えたわけでした。ところが、運から見放されたかのように、野生型のマウスと同じく、ブクブクと太りだしてしまいました。この時点では、このノックアウトマウスの表現形を解析していた人達は一瞬がっかりしたに違いありません。しかし、真底運が悪い人とはどこか違って、高カロリー餌を与えたノックアウトマウスの血液検査を行ったところ、2 型糖尿病に特徴的なインスリン抵抗性が起こらず、従って、糖尿病にもならないことがわかったわけです。また、このマウスの脂肪細胞では、インスリン抵抗性に関与している炎症性サイトカインの 1 つである TNF  $\alpha$  の発現が見られなくなっていました。脂質代謝に関係する遺伝子をノックアウトしたら、なぜ 2 型糖尿病にならなくなるのかという疑問が当然出てきます。この点

がこの論文の凄いところで、「脂っばいものばかり食っているとアテローム性動脈硬化症ばかりでなく、糖尿病に罹る可能性も高くなるよ」ということを、マウスで初めて示唆したのです。実はこのカッコ内の記述はこの時点で論理矛盾があるのですが、その後の研究の結果をふまえると、大筋では間違っていないこととなります。この論文は、CNSの1つであるScienceに1996年に掲載されたものですが(4)、その後の精力的な研究によって、FABP4による脂質代謝と糖代謝が密接に関連していることが明らかにされてきています。1996年というとジーンターゲットの黎明期とは言えませんが、今考えると12年も昔の話になります。彼等の精力的な研究は、メタボリックシンドロームの総合的理解の契機になったと言っても過言ではないと思います。そしてやはり、運も良かったのでしよう。

CNSの1つであるNatureの姉妹誌であるNature Medicineに2001年、アテローム性動脈硬化症を良く発症するアポリポ蛋白EノックアウトマウスとこのFABP4ノックアウトマウスをかけ合せ、ダブルノックアウトマウスをつくと、なんとアテローム性動脈硬化症を発症しにくくなることが報告されました(13)。やはり、FABP4は脂質代謝に関連する動脈硬化症にも関与することが示されました。ごく最近、といっても2007年ですが、これまたCNSの1つであるNatureに、FABP4の経口可能な低分子量阻害剤BMS309403が重症のアテローム性動脈硬化症および2型糖尿病のマウスに対して有効な治療効果があることを報告しています(15)。BMS309403のBMSは世界的な大製薬企業のBristol-Myers Squibbの略ですので、かなり昔から、FABP4を2型糖尿病治療薬の標的として注目してきたことが分かります。

今まですべてマウスでの話しでしたが、ヒトでは一体どうなの？マウスと同じと考えて良いの？という疑問が出てきて当然だと思います。ヒトでは2型糖尿病患者では血中FABP4の値が高くなるという報告が散見されますが、FABP4が2型糖尿病のマーカーとして世間に認められるかどうかは不明です。おそらく脂肪デブと2型糖尿病とを結ぶ鍵であることは間違いないと思いますが、痩せている2型糖尿病のヒトもいるので、すべての2型糖尿病患者というと、すこし難しいのではないかと感じています。

マウスにおいて、肝毒性のマーカーとしてのFABP4が有用であるという報告もあり、マウスを用いた、メタボリックシンドロームの創薬研究には、実に魅力的なマーカーになると確信しています。しかしながら、現時点でマウス血清中のFABP4を測定した論文を見つけることができません。

## References

1. Makowski L, Hotamisligil GS. Fatty acid binding proteins—the evolutionary crossroads of inflammatory and metabolic responses. *J Nutr* 2004;134:2464S-8S.
2. Boord JB, Fazio S, Linton MF. Cytoplasmic fatty acid-binding proteins: emerging roles in metabolism and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2002;13:141-7.
3. Uysal KT, Scheja L, Wiesbrock SM, Bonner-Weir S, Hotamisligil GS. Improved glucose and lipid metabolism in genetically obese mice lacking aP2. *Endocrinology* 2000;141:3388-96.

4. Hotamisligil GS, Johnson RS, Distel RJ, Ellis R, Papaioannou VE, Spiegelman BM. Uncoupling of obesity from insulin resistance through a targeted mutation in aP2, the adipocyte fatty acid binding protein. *Science* 1996;274:1377-9.
5. Coe NR, Simpson MA, Bernlohr DA. Targeted disruption of the adipocyte lipid-binding protein (aP2 protein) gene impairs fat cell lipolysis and increases cellular fatty acid levels. *J Lipid Res* 1999;40:967-72.
6. Scheja L, Makowski L, Uysal KT, Wiesbrock SM, Shimshek DR, Meyers DS, et al. Altered insulin secretion associated with reduced lipolytic efficiency in aP2<sup>-/-</sup> mice. *Diabetes* 1999;48:1987-94.
7. Baar RA, Dingfelder CS, Smith LA, Bernlohr DA, Wu C, Lange AJ, et al. Investigation of in vivo fatty acid metabolism in AFABP/aP2<sup>(-/-)</sup> mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005;288:E187-93.
8. Pelton PD, Zhou L, Demarest KT, Burriss TP. PPAR $\gamma$  activation induces the expression of the adipocyte fatty acid binding protein gene in human monocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 261:456-8.
9. Kazemi MR, McDonald CM, Shigenaga JK, Grunfeld C, Feingold KR. Adipocyte fatty acid-binding protein expression and lipid accumulation are increased during activation of murine macrophages by toll-like receptor agonists. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:1220-4.
10. Fu Y, Luo N, Lopes-Virella MF. Oxidized LDL induces the expression of ALBP/aP2 mRNA and protein in human THP-1 macrophages. *J Lipid Res* 2000;41:2017-23.
11. Llaverias G, Noe V, Penuelas S, Vazquez-Carrera M, Sanchez RM, Laguna JC, et al. Atorvastatin reduces CD68, FABP4, and HBP expression in oxLDL-treated human macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;318:265-74.
12. Makowski L, Brittingham KC, Reynolds JM, Suttles J, Hotamisligil GS. The fatty acid-binding protein, aP2, coordinates macrophage cholesterol trafficking and inflammatory activity. Macrophage expression of aP2 impacts peroxisome proliferator-activated receptor gamma and I-kB kinase activities. *J Biol Chem* 2005;280:12888-95.
13. Makowski L, Boord JB, Maeda K, Babaev VR, Uysal KT, Morgan MA, et al. Lack of macrophage fatty-acid-binding protein aP2 protects mice deficient in apolipoprotein E against atherosclerosis. *Nat Med* 2001;7:699-705.
14. Boord JB, Maeda K, Makowski L, Babaev VR, Fazio S, Linton MF, et al. Combined adipocyte-macrophage fatty acid-binding protein deficiency improves metabolism, atherosclerosis, and survival in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 2004;110:1492-8.
15. M Furuhashi, G Tuncman, CZ Gorgun, L Makowski, G Atsumi, E Vaillancourt, K Kono, VR Babaev, S Fazio, MF Linton, R Sulsky, JA Robl, RA Parker, and GS Hotamisligil; Treatment of diabetes and atherosclerosis by inhibiting fatty-acid-binding protein aP2. *Nature*, Jun 2007;

447(7147): 959-65.

#### **FABP4 およびリポカリンファミリー関連製品**

- CircuLex ヒト RBP4 ELISA キット (Cat# CY-8072)
- CircuLex ヒト NGAL/Lipocalin-2 ELISA キット (Cat# CY-8070)
- CircuLex ラット NGAL/Lipocalin-2 ELISA キット (Cat# CY-8053)
- CircuLex マウス FABP1/L-FABP ELISA キット (Cat# CY-8054)
- CircuLex マウス FABP3/H-FABP ELISA キット (Cat# CY-8055)
- CircuLex ラット FABP4/A-FABP ELISA キット (Cat# CY-8076)
- CircuLex マウス FABP4/A-FABP ELISA キット (Cat# CY-8077)
- CircuLex マウス FABP5/E-FABP/mal1 ELISA キット (Cat# CY-8056)

#### **その他糖尿病/脂質研究関連製品**

- CircuLex マウス/ラット PCSK9 ELISA キット (Cat# CY-8078)
- CircuLex ヒト PCSK9 ELISA キット (Cat# CY-8079)
- CircuLex PCSK9-LDLR in vitro Binding Assay キット (Cat# CY-8150)
- CircuLex ラット Adiponectin ELISA キット (Cat# CY-8049)
- CircuLex ヒト Adiponectin ELISA キット (Cat# CY-8050)
- CircuLex マウス Adiponectin ELISA キット (Cat# CY-8051)
- CircuLex イヌ Adiponectin ELISA キット (Cat# CY-8052)
- CircuLex マウス Visfatin/PBEF ELISA キット (Cat# CY-8065)
- CircuLex ヒト High-Sensitivity CRP ELISA キット (Cat# CY-8071)
- CircuLex ヒト Chitotriosidase ELISA キット (Cat# CY-8074)
- CircuLex ヒト AIM/CD5L/Sp  $\alpha$  ELISA キット (Cat# CY-8075)
- CircuLex ヒト AIM/CD5L/Sp  $\alpha$  ELISA キット (Cat# CY-8080)
- CircuLex ヒト soluble LOX-1/OLR1 ELISA キット (Cat# CY-8081)
- 組み換え ヒト PCSK9 Wild Type in culture medium (Cat# CY-R2310)
- 組み換え ヒト PCSK9 D374Y in culture medium (Cat# CY-R2311)
- 組み換え ヒト PCSK9 Wild Type/  $\Delta$  53 in culture medium (Cat# CY-R2320)
- 組み換え ヒト PCSK9 D374Y/  $\Delta$  53 in culture medium (Cat# CY-R2321)
- 組み換え ヒト PCSK9 Wild Type (Cat# CY-R2330)
- 組み換え ヒト PCSK9 D374Y (Cat# CY-R2331)
- 組み換え ヒト PCSK9 R194A (Cat# CY-R2333)
- 組み換え ヒト LDLR EGF-AB domain (Cat# CY-R2340)
- 組み換え ヒト LDLR EGF-AB domain, Myc-tagged (Cat# CY-R2341)
- 組み換え PA0122 (Pseudomonas aeruginosa) Low Endotoxin (Cat# CY-R2474)



組み換え Asp-hemolysin (*Aspergillus fumigatus*) Low Endotoxin (Cat# CY-R2475)  
組み換え ヒト soluble LOX-1/OLR1 (Cat# CY-R2271)  
組み換え ヒト AIF-1 (Allograft Inflammatory Factor 1) Low Endotoxin (Cat# CY-R2468)  
組み換え ヒト NAMPT/Visfatin Low Endotoxin (Cat# CY-R2471)  
抗 ヒト PCSK9 Prodomain Clone KS-2C8 モノクローナル抗体 (Cat# CY-M1032)  
抗 ヒト PCSK9 Clone KS-4H12 モノクローナル抗体 (Cat# CY-M1033)  
抗 ヒト PCSK9 ポリクローナル抗体 (Cat# CY-P1037)  
抗 ヒト Adiponectin ポリクローナル抗体 (Cat# CY-P1017)  
抗 マウス Adiponectin ポリクローナル抗体 (Cat# CY-P1018)  
抗 ヒト ANGPTL4 (Angiopoietin-Like 4) ポリクローナル抗体 (Cat# CY-P1021)  
抗 マウス ANGPTL4 (Angiopoietin-Like 4) ポリクローナル抗体 (Cat# CY-P1022)  
抗 ヒト Paraoxonase-1 ポリクローナル抗体 (Cat# CY-P1034)  
抗 ヒト AIM/SP $\alpha$ /CD5L (Lymphocyte antigen CD5-like) ポリクローナル抗体 (Cat# CY-P1036)  
抗 ヒト Paraoxonase-1 Clone KS-5F5 モノクローナル抗体 (Cat# CY-M1034)

#### 国内販売代理店

株式会社医学生物学研究所 営業推進部 基礎試薬グループ  
〒460-0008 名古屋市中区栄四丁目 5 番 3 号 KDX 名古屋栄ビル 10 階  
TEL:052-238-1904/FAX:052-238-1441  
URL: <https://ruo.mbl.co.jp/>  
E-mail: [support@mbl.co.jp](mailto:support@mbl.co.jp)

#### 株式会社サイクレックス

〒396-0002 長野県伊那市手良沢岡 1063-103  
URL: <http://www.cyclex.co.jp/>  
E-mail: [info@cyclex.co.jp](mailto:info@cyclex.co.jp)