

研究成果報告書

事業名（補助金名）	基盤的研究開発育成事業（若手研究補助金）
研究開発テーマ名	脂質代謝関連遺伝子 perilipin の発現機構の解析
研究代表者名	永井 聰 【北海道大学大学院医学研究科病態内科学講座／医員】 【前 北海道大学大学院医学研究科病態内科学講座／研究生】
共同研究者名	清水 力 【北海道大学病院臨床検査部／講師】 【前 北海道大学大学院医学研究科病態内科学講座／助手】

背景

肥満とは脂肪組織が過剰に蓄積した状態であり、高血圧、耐糖能障害、高脂血症などの生活習慣病の主要なリスクファクターである[1]。また、肥満を基礎とした生活習慣病の集積はメタボリックシンドロームと称され、動脈硬化症や心血管系疾患の発症と強い関連性が示唆されている[1]。脂肪細胞の肥大化は脂肪細胞内脂肪滴の増大によってなされており、肥大化した脂肪細胞からは Tumor Necrosis Factor (TNF)- α や遊離脂肪酸 (FFA)、レジスタンスなどのインスリン抵抗性惹起物質が産生される[1]。

哺乳動物において、過剰なエネルギーを貯蔵する部位は、脂肪細胞の細胞質内に存在するトリアシルグリセロールを豊富に含む脂肪滴である。脂肪滴周囲に存在する蛋白として perilipin (ペリリピン)、adipose differentiation-related protein (ADRP)、S3-12 などが知られている[2]。ペリリピンは、組織特異的な選択的スプライシングによって、A、B、C、D の 4 つのアイソフォームがあり[3]、ペリリピン A は脂肪組織や分化刺激後のマウス 3T3-L1 細胞株において顕著に発現している[4]。非分化刺激下の 3T3-L1 細胞株を用いてペリリピン A を強制発現させると、ペリリピン A はトリアシルグリセロールの加水分解を抑制して蓄積を増加させる[5]。このことから、ペリリピン A は脂肪細胞内の脂肪滴サイズの増大のために重要な蛋白であると考えられている。一方、脂肪細胞における脂肪分解の重要なステップは、ホルモン感受性リバーゼ (HSL) が、細胞質から脂肪滴表面に移動し、脂肪滴内のトリアシルグリセロールを FFA とグリセロールに加水分解することであるが、HSL が脂肪滴表面に移動するには、PKA による HSL 自身のリン酸化に加え、ペリリピンのリン酸化も必須であることが明らかにされている[6][7]。

チアゾリジン誘導体は、肥満を伴う 2 型糖尿病患者のインスリン抵抗性を改善する治療薬として知られているが、その一つであるトログリタゾンは、肥満モデルである obese Zucker ラットを用いた実験により、核内受容体である peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) γ の活性化を介して、脂肪滴が小さな小型脂肪細胞の数を増加させ、インスリン抵抗性を改善させる[8]。PPAR のサブタイプは他に α と δ がある。PPAR α は最初に同定されたサブタイプであり脂肪代謝に重要な働きをしている。PPAR δ は脂肪の燃焼を介して脂肪代謝に関与している。これらの PPARs は retinoid X receptor (RXR) とヘテロダイマーを形成して peroxisome proliferator-activated receptor responsive element (PPRE) に結合し、対象遺伝子を活性化する共通の作用機序を有している。

ペリリピン遺伝子の発現に関して、これまでいくつかの報告がある。脂肪細胞に分化させた 3T3-L1 細胞において、TNF- α はインスリンと拮抗してペリリピン A の mRNA を減少させるが、チアゾリジン誘導体 BRL49653 は mRNA を増加させる[9-11]。さらに、我々は、ペリリピン遺伝子のプロモーター領域に PPRE が存在し、PPAR γ がペリリピン遺伝子の調節に直接関与していることが明らかとした[12]。本研究では、肥満やインスリン抵抗性の病態に、脂肪滴の大きさの変化が重要であるという観点に立ち、ペリリピンを肥満治療の標的と考え、その発現量に影響を与える薬剤を同定し、肥満の治療の新たな方向性を見いだすことを目的とした。まず PPAR のサブタイプである PPAR δ がペリリピンの発現調節に直接関与しているかどうかを検討し、次に抗高脂血症薬として広く用いられているプラバスタチンが pleiotropic effect として脂肪滴の肥大化・脂肪分解への影響があるかどうかについて検討した。

内容・方法

1. 試薬

GW501516 は Calbiochem (San Diego, CA, USA)から購入した。プラバスタチンは、Sankyo Company (Tokyo, Japan)より供与された。

2. 細胞と細胞培養条件

Cos-7 細胞、マウス前駆脂肪細胞株 3T3-L1 とマウス線維芽細胞株 NIH-3T3 は ATCC (Manassas, VA, USA) から購入した。3T3-L1 分化脂肪細胞に遺伝子導入する場合は、3T3-L1 前駆脂肪細胞を 10%牛胎仔血清 (FBS) を含む Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) を培養液として 12 穴プレートに巻き、コンフルエント到達後、48 時間まで継続して培養した。その後 174 nM のインスリン (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)、0.5 mM の 3-isobutyl-2-methylxanthine (IBMX) (Wako pure chemical, Richmond, VA, USA)、1 μM のデキサメサゾン (DEX) (Wako pure chemical)、1 μM のチアゾリジン誘導体ピオグリタゾン (Takeda Chemical Industries, Osaka, Japan より供与) を含んだ DMEM 10%FBS にて分化刺激を行った。2 日間培養の後に培養液を DMEM 10%FBS のみに交換し、以後遺伝子導入まで 2 日毎に培養液を交換した。

NIH-3T3 細胞に遺伝子導入する場合は、それぞれ 12 穴プレートに DMEM 10%FBS のみで 70~80% コンフルエントとなるまで培養した。遺伝子導入まで 2 日毎に培養液を交換した。

3. プラスミドの作製

マウス副腎由来 cDNA を鋳型とし、特異的プライマーを用いた PCR 反応によりマウス PPAR γ 、PPAR δ および RXR α の完全長 cDNA を得た後、pcDNA3.1/V5-HisTOPO TA expression vector (Invitrogen, Carsbad, CA, USA)にライゲーションして PPAR γ 、PPAR δ および RXR α 発現ベクターをそれぞれ作成した。作成した発現ベクターは Cos-7 細胞に遺伝子導入し、特異的抗体にてウェスタンプロットを施行し発現を確認した。

マウスペリリピン遺伝子の 5'側非翻訳領域 2.4kb をルシフェラーゼ発現ベクターである pGL3 basic vector (Promega, Madison, WI, USA) にライゲーションし、pGL3(-2422/+103)を作成した[12]。作成した pGL3(-2422/+103)を制限酵素処理または鋳型として特異的プライマーにて PCR 反応を行うことにより pGL3(-1827/+103)、pGL3(-1442/+103)、pGL3(-504/+103)、pGL3(+64/+103)をそれぞれ作成した。また、PPRE 領域のルシフェラーゼ活性の検討のため、ペリリピン遺伝子転写開始点上流-2008bp から-1802bp の領域の DNA 断片を SV40 プロモーターを有する pGL3 promoter vector (Promega) に同様に結合し、pGL3(-2008/-1802)を作成した。プラスミドの精製は Plasmid Maxi kit (Qiagen, Bothell, WA, USA) にて行い、ベクターと挿入断片の結合部は塩基配列決定して確認した。

4. RT-PCR

分化誘導後 0、1、2、4、6、8 日目の 3T3-L1 細胞から RNeasy mini kit (Qiagen)により採取した total RNA 0.5μg を、定法に従い Superscript III RNase H⁻ reverse transcriptase (Invitrogen) にて逆転写反応を行い、cDNAを得た。その後ペリリピン並びにβ-actin の特異的プライマーを用いて PCR 反応(25 サイクル)を行った。

5. 遺伝子導入とルシフェラーゼアッセイ

細胞への遺伝子導入は、LipofectAMINE2000 reagent (Invitrogen)を用いて行った。まず 2μl の LipofectAMINE2000 reagent と 100μl の OPTI-MEM (Invitrogen)を混ぜ、室温 5 分置いた後、種々の発現ベクターと 0.3μg の pCMV-SPORT β-galactosidase (β-gal) 発現ベクター(Invitrogen)を加えた 100 μl の OPTI-MEM と混合し、さらに室温 15 分静置した。その後この溶液を 12 穴プレート 1 穴分に添加し、2 日間 37°C 培養後、細胞を回収した。

NIH-3T3 細胞を用いた実験では、1μg のルシフェラーゼ発現ベクターとともに、合計で 2μg となるよう PPAR γ 発現ベクター、PPAR δ 発現ベクター、RXR α 発現ベクター、mock vector (pSV-CMV vector [13]) を細胞に導入した、GW501516 およびピオグリタゾン添加の場合、濃度はそれぞれ 1μM となるようにした。遺伝子導入してから 48 時間培養後、細胞を回収した。

細胞の回収は、まず細胞を 2 回リン酸緩衝食塩水 (PBS) にて洗浄後、培養細胞溶解剤 LC β -PGC-51 (Toyo Ink, Tokyo, Japan) にて溶解し、Luciferase assay system (Promega) を用いて TD20/20 luminometer (Turner BioSystems Inc., Sunnyvale, CA, USA) でルシフェラーゼ活性を測定した。遺伝子導入効率を反映させるために、溶解後の溶液を用いて定法に従いβ-gal 活性を測定し、ルシフェラーゼ活性値/β-gal 活性値を算出した。さらにデータを対照ベクター (実験により pGL3 basic vector または pGL3 promoter vector) のルシフェラーゼ活性値/β-gal 活性値の倍数で表示した。

6. リアルタイム RT-PCR

脂肪細胞分化誘導後4日目の3T3-L1細胞からtotal RNA 2μgをRNeasy mini kitにて抽出した。逆転写反応の後、ABI PRISM 7700およびSYBR Green I(PE Applied Biosystems, Foster City, CA) を用いてリアルタイムPCRを施行した。各サンプルのペリリピン定量の結果はβ-actinとの相対比で表した。

7. ウエスタンブロッティング

Cos-7細胞または脂肪細胞分化誘導後4日目の3T3-L1細胞から全タンパクをRIPA buffer (150 mM NaCl, 1% NP-40, 0.5% deoxycholate, 0.1% SDS, 50 mM Tris pH7.5)にて抽出した。タンパク分解酵素阻害剤としてComplete mini (Roche, Indianapolis, IN, USA)を1tab/10mLにて使用した。10% ポリアクリルアミドゲル1レーンにつき10 μgの全タンパクをSDS-PAGEの定法にしたがって泳動し、immobilon-P (Millipore, Birrelika, MA, USA)にプロットした。一次抗体として抗PPAR γ 抗体(Santa Cruz, Santa Cruz, CA, USA)、PPAR δ 抗体(Santa Cruz)、ラットペリリピン抗体(Research Diagnostics Inc., Flanders, NJ, USA)、二次抗体として抗ラットIgG HRP抗体(Research Diagnostics Inc.)を使用した。検出試薬としてECL chemiluminescence detection system (Amersham Biosciences Corp., Piscataway, NJ, USA)を使用し、レントゲンフィルムに転写した。

結果・成果

1. PPAR γ 、PPAR δ 、RXR α 発現ベクターの作成

PPAR γ 、PPAR δ 、RXR α 各cDNAをRT-PCRにより得てそれぞれの発現ベクター作成した。PPAR γ 、PPAR δ 発現ベクターをcos-7細胞にトランスフェクションし、48時間後に細胞からタンパクを回収して特異的抗体によるウェスタンプロットを施行したところ、特異的バンドを検出した(図1A)。つぎに、PPREを含むルシフェラーゼ発現ベクターpGL3(-2008/-1802)をNIH-3T3細胞に遺伝子導入し、同時にPPAR γ 、PPAR δ (\pm RXR α)それぞれの発現ベクターを、リガンド(PPAR γ ではピオグリタゾン、PPAR δ ではGW501516)投与下、非投与下で導入し、ルシフェラーゼ活性を検討した。いずれの発現ベクターでも、リガンド投与ならびにRXR α の同時投与によりルシフェラーゼ活性の上昇を認めた(図1B、1C)。

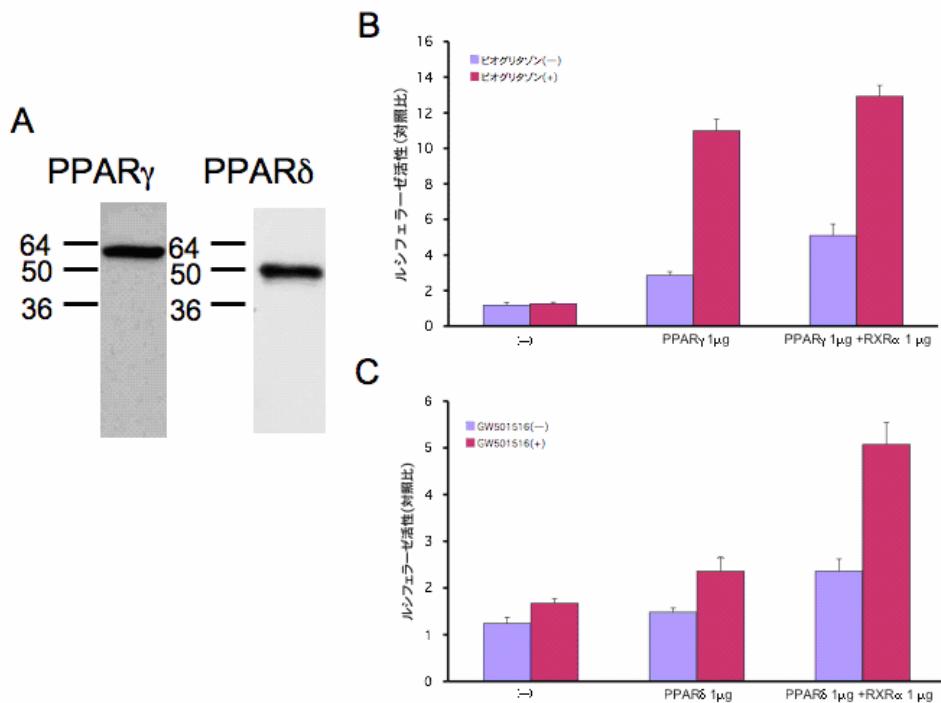


図1 PPAR γ およびPPAR δ 発現ベクターの作成。

A: cos-7細胞に強制発現させたPPAR γ およびPPAR δ 蛋白に対する特異抗体を用いたウェスタンプロット。B: NIH-3T3細胞にmock vector 2 μ g(左)、PPAR γ 1 μ g+mock vector 1 μ g(中央)、PPAR γ 1 μ g+RXR α 1 μ g(右)を遺伝子導入した際の、ピオグリタゾン添加群・非添加群におけるpGL3(-2008/-1802)のルシフェラーゼ活性。C: NIH-3T3細胞にmock vector 2 μ g(左)、PPAR δ 1 μ g+mock vector 1 μ g(中央)、PPAR δ 1 μ g+RXR α 1 μ g(右)を遺伝子導入した際の、GW501516添加群・非添加群におけるpGL3(-2008/-1802)のルシフェラーゼ活性。

このことより作成した発現ベクターが活性を有することが確認できた。また同時にペリリピン遺伝子のプロモーター領域に存在するPPREは、PPAR γ に加えて、PPAR δ にも反応することが明らかとなった。

2. ペリリピンプロモーター領域におけるPPAR δ 反応部位の同定

PPAR δ がペリリピン遺伝子発現調節に関与するかについて、種々の長さのペリリピンプロモーター領

域を連結させたルシフェラーゼ発現ベクターを作成し、PPAR δ およびRXR α 発現ベクターとともにNIH-3T3細胞に導入し、ルシフェラーゼ活性を検討した。我々の同定したPPREを含む、pGL3(-2422/+103)では、GW501516を添加した場合にのみ著明に活性は上昇したが(図2)、PPREを含まない他のルシフェラーゼ発現ベクターでは、明らかな活性の上昇を認めなかつた。また、GW501516の非添加、添加の比較でもこれらのベクターにおけるルシフェラーゼ活性に差は認めなかつた(図2)。このことから、PPAR δ は、我々の同定したPPREを介してペリリピン遺伝子の発現を亢進させることが明らかとなつた。

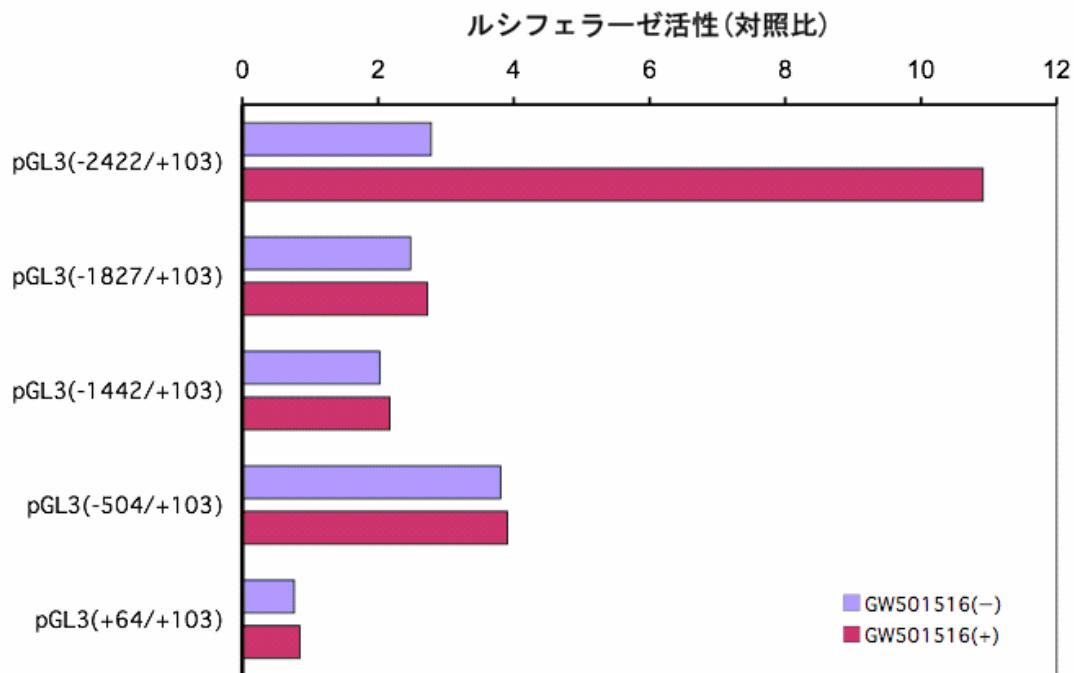


図2 ペリリピン遺伝子プロモーター領域を連結したルシフェラーゼ発現ベクターによるレポーターアッセイの結果。GW501516添加群・非添加群の比較。

3. 3T3-L1脂肪細胞におけるPPAR δ のペリリピンmRNA発現量への影響

分化刺激後の3T3-L1脂肪細胞において、PPAR δ がペリリピン遺伝子発現に直接関わるかどうかについて検討した。分化刺激後、1 μ MのGW501516を添加して培養した群と非添加で培養した群からそれぞれ分化刺激後0、1、2、4、6、8日目にtotal RNAを採取し、RT-PCRを施行した(図3A)。その結果、GW501516添加群では非添加群に比べ、ペリリピンの発現量が早期から増加していた。4日目までは増加していることから、分化刺激後、ピオグリタゾン、GW501516をそれぞれ、または同時に添加し、4日目に採取したサンプルを用いてリアルタイムRT-PCRを施行した(図3B)。その結果、非添加群比べて、ピオグリタゾンまたはGW501516添加ではいずれもペリリピンのmRNA発現量は増加しており、同時添加によりさらに発現量が増加していることからこれらリガンドの転写促進作用は相加的であることが明らかとなつた。PPAR δ は3T3-L1脂肪細胞において恒常的に発現しており(図3A)、脂肪細胞におけるペリリピンの発現調節には、PPAR γ だけではなく、PPAR δ も作用していると考えられた。

肥満治療戦略の一つとして、脂肪組織においてペリリピンの発現を亢進させることが有用である可能性が報告されている。遠藤[14]はヒトペリリピンを脂肪組織に特異的に発現するトランスジェニックマウスを作成し、このマウスの脂肪細胞は小型化していること、高脂肪食負荷にて野生型と比較して有意に体重減少していることを報告した。その原因として単位脂肪量あたりのペリリピン蛋白が増加したことにより、

脂肪滴表面積が増加し、ペリリピンがよりリン酸化を受けやすくなり、脂肪分解がおきやすくなっている可能性が考えられる[Dr. Hideaki Miyoshi, Personal Communication]。

Wangら[15]はPPAR δ 脂肪組織特異的トランスジェニックマウスにおいて、PPAR δ が脂肪の燃焼を介して肥満を抑制することを報告した。脂肪燃焼のためには脂肪分解により生じるFFAが必要であるが、今回の研究により、PPAR δ がペリリピンの発現を亢進させることは、脂肪分解の亢進と協調的な作用であることが明らかとなった。PPAR γ はペリリピンの発現を亢進させるが、ピオグリタゾンは様々な代謝改善作用がある一方で体重増加の問題を有している。一方、PPAR δ はペリリピンの発現を亢進させるとともに脂肪燃焼も亢進させることから、抗肥満薬として有用であると考えられる。ただし、全身投与にあたっては、PPAR δ 作用亢進は、腫瘍増殖促進に働くという報告がある一方、逆にPPAR δ 作動薬は抑制するという報告があり結論に至っていない[16]ため、その是非は今後の課題となる。

4. プラバスタチンによる発現調節

最後に、3T3-L1脂肪細胞を用いて、高脂血症治療薬プラバスタチンのpleiotropic effectとして、ペリリピンに対する影響があるかについて検討した。3T3-L1脂肪細胞の分化刺激後3日目に、種々の濃度でプラバスタチンを投与し、20時間後にtotal RNAを抽出し、リアルタイムRT-PCRを実施した。その結果、プラバスタチン濃度依存性にペリリピンの遺伝子発現は増加した(図4A)。一方、ウェスタンプロットでは、プラバスタチン濃度依存性にペリリピンのタンパクは減少した(図4B)。

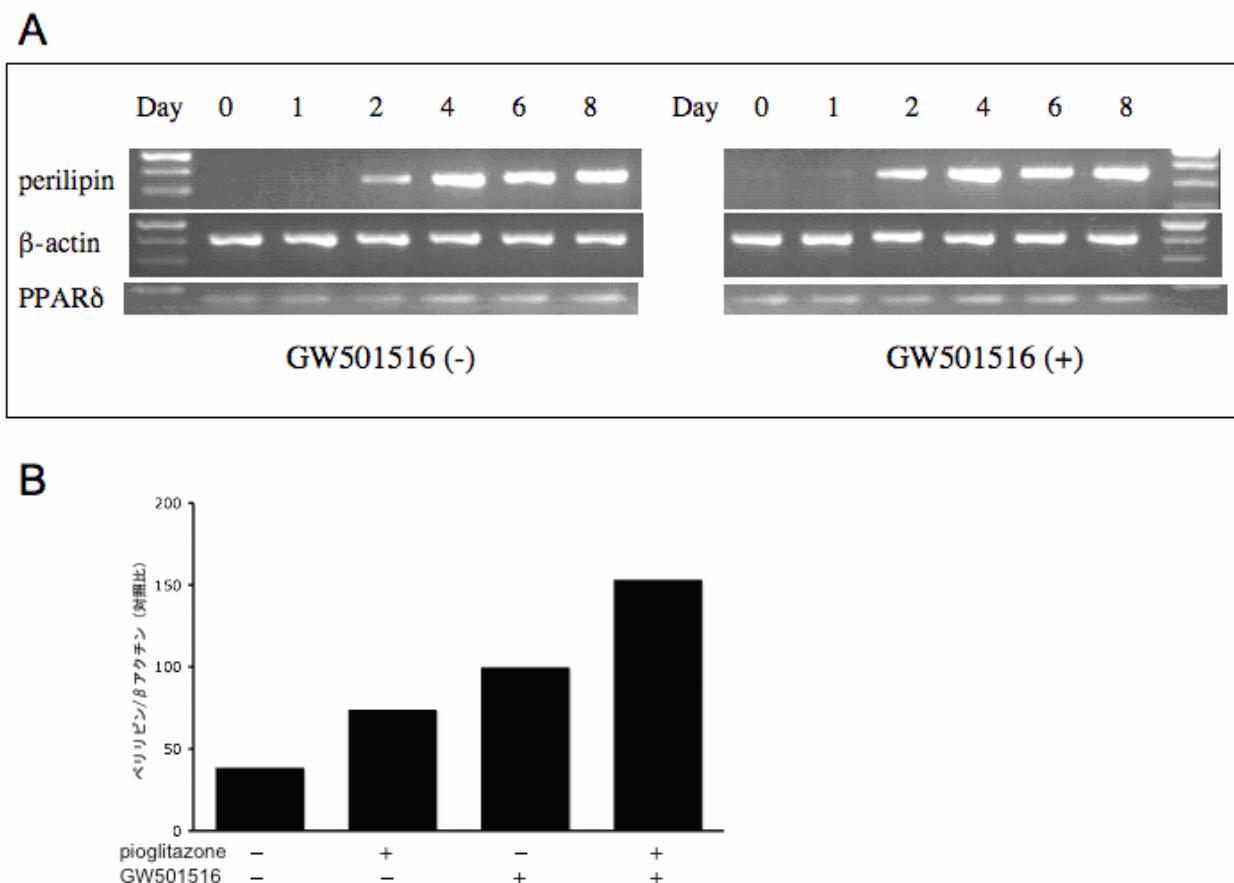


図3 分化刺激後の3T3-L1細胞におけるペリリピン遺伝子の発現量の検討。

A: RT-PCR(25サイクル)によるGW501516添加群・非添加群におけるペリリピン、 β アクチン、PPAR δ 遺伝子の発現量の検討。B: リアルタイムPCRによるピオグリタゾン・GW501516投与のペリリピン遺伝子の発現量に対する影響の検討。

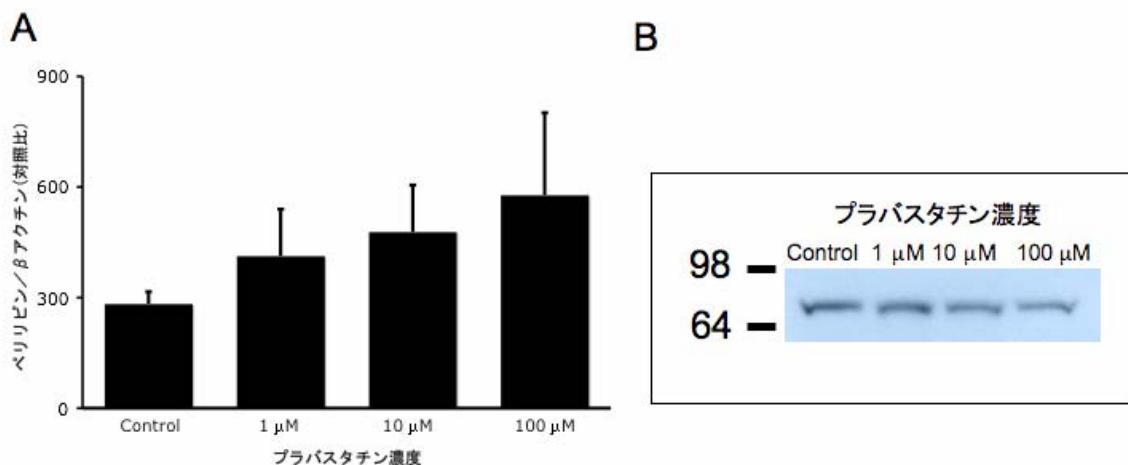


図4 プラバスタチンによるペリリピンに対する作用の検討。

A: リアルタイムPCRによるプラバスタチン投与時のペリリピン遺伝子の発現量の検討。B: ウエスタンブロットによるプラバスタチン投与時のペリリピン蛋白への影響の検討。

コレステロールの生合成経路において、3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductaseは HMG-CoA からメバロン酸を生成する律速段階となる酵素である。この酵素の阻害薬（スタチン）はLDL受容体を活性化させて血中LDLコレステロールを減少させる。さらに、中性脂肪減少作用ならびにHDLコレステロール上昇作用も認める。多くの大規模臨床研究によりスタチンは心血管イベントを減少させているが、実際には、早期の心血管イベントを抑制するにはLDL減少作用だけではなく、内皮細胞の機能改善や、抗炎症作用や、平滑筋細胞の進展抑制およびアポトーシス、単球細胞による酸化LDLの取り込みの抑制といった抗動脈硬化作用も重要であることが示唆されている。プラバスタチンは、スタチンの中で唯一大規模臨床研究にて糖尿病発症を予防することが示されており[17]、また、少数の検討ながら女性のメタボリックシンドローム患者のインスリン感受性を改善させることが報告されている[18]。脂肪細胞から分泌され、インスリン感受性改善作用を有するアディポネクチンは、PPAR γ により発現が調節されており、プラバスタチンにより血中濃度が増加することが示唆されている。プラバスタチンに何らかの脂肪細胞へ対する作用が期待され、またペリリピンもPPAR γ により発現が調節されていることから、今回プラバスタチンのペリリピンに対する作用を検討した。プラバスタチン投与によりペリリピン蛋白量は減少し、逆にmRNAの発現が亢進していた。これは、プラバスタチンによりペリリピン蛋白の分解が促進され、その代償として発現が亢進していた可能性が考えられる。プラバスタチンは、ペリリピンの代謝に影響を与えることが示唆された。

今後の展開

ペリリピンは脂肪滴の増大と分解の両者に必須な蛋白であり、本研究でその発現調節には、PPAR γ に加えPPAR δ も関与していることが明らかとなった。ペリリピンを標的とした肥満治療は現在糖尿病治療薬として使用されているPPAR γ 作動薬とともに、脂肪燃焼を促進するPPAR δ 作動薬が有効と考えられ、*in vivo*でペリリピンの発現に関する検討が必要となる。また、高脂血症治療薬（スタチン）の一つであるプラバスタチンは、ペリリピンの代謝に影響を与える可能性が示唆された。今後、その機序を解明することや、他のスタチン製剤での検討が必要となる。ペリリピンは、ヒト動脈硬化巣でも発現していることから、これらの薬剤が動脈硬化巣でのペリリピン蛋白の機能にも影響を与えているかどうかについても検討が必要である。

文 献

1. Spiegelman BM, Flier JS. Adipogenesis and obesity: Rounding out the big picture. *Cell*. 1996; **87**: 377-389.
2. Miura S, Gan, JW, Brzostowski J, Parisi MJ, Schultz CJ, Londos C, Oliver B, Kimmel, AR. Functional conservation for lipid storage droplet association among Perilipin, ADRP, and TIP47 (PAT)-related proteins in mammals, *Drosophila*, and *Dictyostelium*. *J Biol Chem* 2002; **277**: 32253-32257.
3. Lu X, Gruia-Gray J, Copeland NG, Gilbert DJ, Jenkins NA, Londos C, Kimmel AR. The murine perilipin gene: the lipid droplet-associated perilipins derive from tissue-specific, mRNA splice variants and define a gene family of ancient origin. *Mamm Genome*. 2001; **12**: 741-749.
4. Blanchette-Mackie EJ, Dwyer NK, Barber T, Coxey RA, Takeda T, Rondinone CM, Theodorakis JL, Greenberg AS, Londos C. Perilipin is located on the surface layer of intracellular lipid droplets in adipocytes. *J Lipid Res*. 1995; **36**: 1211-1226.
5. Brasaemle DL, Rubin B, Harten IA, Gruia-Gray J, Kimmel AR, Londos C. Perilipin A increases triacylglycerol storage by decreasing the rate of triacylglycerol hydrolysis. *J Biol Chem*. 2000; **275**: 38486-38493.
6. Sztalryd C, Xu G, Dorward H, Tansey JT, Contreras JA, Kimmel AR, Londos C. Perilipin A is essential for the translocation of hormone-sensitive lipase during lipolytic activation. *J Cell Biol*. 2003; **161**: 1093-1103.
7. Tansey JT, Huml AM, Vogt R, Davis KE, Jones JM, Fraser KA, Brasaemle DL, Kimmel AR, Londos C. Functional studies on native and mutated forms of perilipins. A role in protein kinase A-mediated lipolysis of triacylglycerols. *J Biol Chem*. 2003; **278**: 8401-8406.
8. Okuno A, Tamemoto H, Tobe K, Ueki K, Mori Y, Iwamoto K, Umesono K, Akanuma Y, Fujiwara T, Horikoshi H, Yazaki Y, Kadokawa T. Troglitazone increases the number of small adipocytes without the change of white adipose tissue mass in obese Zucker rats. *J Clin Invest*. 1998; **101**: 1354-1361.
9. Rosenbaum SE, Greenberg AS. The short- and long-term effects of tumor necrosis factor-alpha and BRL 49653 on peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)gamma2 gene expression and other adipocyte genes. *Mol Endocrinol*. 1998; **12**: 1150-1160.
10. Souza SC, Yamamoto MT, Franciosa MD, Lien P, Greenberg AS. BRL 49653 blocks the lipolytic actions of tumor necrosis factor-alpha: a potential new insulin-sensitizing mechanism for thiazolidinediones. *Diabetes* 1998; **47**: 691-695.
11. Tamori Y, Masugi J, Nishino N, Kasuga M. Role of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in maintenance of the characteristics of mature 3T3-L1 adipocytes. *Diabetes* 2002; **51**: 2045-2055.
12. Nagai S, Shimizu C, Umetsu M, Taniguchi S, Endo M, Miyoshi H, Yoshioka N, Kubo M, Koike T. Identification of a functional peroxisome proliferator-activated receptor responsive element within the murine perilipin gene. *Endocrinology* 2004; **145**: 2346-56.
13. Sasai Y, Kageyama R, Tagawa Y, Shigemoto R, Nakanishi S. Two mammalian helix-loop-helix factors structurally related to *Drosophila* hairy and Enhancer of split. *Genes Dev*. 1992; **6**: 2620-2634.

14. 遠藤三紀子. 脂質代謝におけるperilipinの作用の作用に関する研究- トランスジェニックマウスを用いた機能解析-. 北海道医誌 2003; **78**: 297-306.
15. Wang YX, Lee CH, Tiep S, Yu RT, Ham J, Kang H, Evans RM. Peroxisome-proliferator-activated receptor delta activates fat metabolism to prevent obesity. *Cell*. 2003; **113**: 159-170.
16. Burdick AD, Kim DJ, Peraza MA, Gonzalez FJ, Peters JM, The role of peroxisome proliferator-activated receptor-beta/delta in epithelial cell growth and differentiation. *Cell Signal*. 2006; **18**: 9-20.
17. Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, Isles CG, Lorimer AR, MacFarlane PW, McKillop JH, Packard CJ. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med*. 1995; **333**: 1301-1307
18. Guclu F, Ozmen B, Hekimsoy Z, Kirmaz C. Effects of a statin group drug, pravastatin, on the insulin resistance in patients with metabolic syndrome. *Biomed Pharmacother*. 2004; **58**: 614-618.