

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04848

研究課題名(和文) PGC1による骨格筋エネルギー代謝制御機構の解析

研究課題名(英文) Analysis of the regulation of energy metabolism in skeletal muscle by PGC1alpha

研究代表者

小川 渉(Ogawa, Wataru)

神戸大学・医学研究科・教授

研究者番号：40294219

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：運動時に骨格筋で発現が顕著に増強する転写コアクチベーターPGC-1の新規アイソフォームを同定し、遺伝子欠損マウス(KOマウス)を作成した。KOマウスは運動時のエネルギー消費減弱に起因する肥満を示し、寒冷時の体温維持も障害されていた。運動によるPGC-1の新規アイソフォーム発現増強にはアドレナリンシグナルが重要な機能を担い、肥満マウスや加齢マウスでは骨格筋のアドレナリンシグナル感受性の低下のため、運動によるPGC-1の新規アイソフォームの発現増強が障害されていた。KLF15はPGC-1の新規アイソフォームによって発現が制御されるが、運動時の代謝制御には独立した機能を持つと考えられる。

研究成果の概要(英文)：We have identified novel isoforms of the transcriptional coactivator PGC-1alpha which expression is robustly upregulated in skeletal muscle in response to exercise. Mice that lack the novel isoforms of PGC-1-alpha develop obesity due to the decreased energy expenditure during exercise and are not able to maintain their body temperature on exposure to cold circumstance. We have found that beta-adrenergic stimulus plays an important role in the upregulation of the PGC-1alpha isoforms in skeletal muscle during exercise. In obese mice models or in aged mice, exercise-induced upregulation of the PGC1alpha isoforms is impaired, which is attributable to the decrease in the sensitivity of skeletal muscle to the PGC-1alpha isoforms. Whereas the expression of the transcription factor KLF15 is regulated by the PGC1-alpha isoforms, the downstream pathway of PGC-1-alpha isoforms that lead to the regulation of energy metabolism during exercise is independent of KLF15.

研究分野：代謝学

キーワード：骨格筋 エネルギー代謝 肥満

1. 研究開始当初の背景

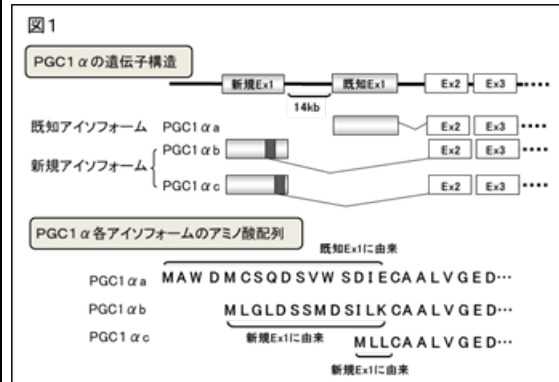
糖尿病患者数は我が国でも増加の一途を辿り、国内の糖尿病患者数は 1000 万人に達するとされる。糖尿病の 95% を占める 2 型糖尿病は、遺伝的素因と生活習慣による二次的要因が相まって発症すると考えられている。

身体運動の低下は、肥満多加齢、食事組成の変化などとともに、2 型糖尿病を発症させる重要な要因の一つであり、また、運動療法は最も基本的かつ重要な 2 型糖尿病の治療法である。

身体運動は様々な機序によって耐糖能を改善させ、糖尿病の発症予防や病態の改善をもたらすと考えられている。骨格筋の収縮は、骨格筋の糖取り込みを促進させ、直接血糖降下作用をもたらす。一方で身体運動では骨格筋の代謝関連遺伝子の発現が増加し、インスリン感受性が增强することも知られている。しかし、運動によって骨格筋の代謝関連遺伝子の発現変化がどのような機構で制御されているか、また、骨格筋の代謝関連遺伝子の発現変化がどのような機構で全身の代謝を改善させるかは明らかではない。

Peroxisome proliferator-activated receptor gamma-coactivator-1 (PGC-1) は多彩な機能を持つ転写コアクチベーターであるが、種々の糖代謝、脂肪酸代謝関連遺伝子の転写を活性化し、代謝の制御にも重要な役割を果たすと考えられている。PGC-1 の発現は運動によって骨格筋で発現が増加することが知られており、運動による代謝改善に重要な機能を果たす可能性が広く注目されてきた。しかし、PGC-1 を全身あるいは骨格筋で欠損したマウスはインスリン感受性の低下や運動による代謝改善の障害は認めず (Cell 119, 121, 2004, J Clin Invest 117, 3463, 2007) PGC-1 が運動による耐糖能やインスリン感受性の改善に関わることを示す直接の証拠はなかった。

代表者らはマウスゲノム情報の解析から、既知の PGC-1 の第一エクソン上流に存在する新規な第一エクソンが存在し、そのエクソンから転写が開始される PGC-1 の新規アイソフォーム 2 種を同定し、既知 PGC-1 を PGC-1 a、新規アイソフォームを PGC-1 b 及び PGC-1 c と呼ぶことを提唱した (図 1)。既知 PGC-1 (PGC-1 a) が広範な臓器分布を示すのに対し、PGC-1 b 及び PGC-1 c は活発なエネルギー消費臓器である骨格筋、褐色脂肪及び心筋に局限していた。また、運動により骨格筋では PGC-1 b 及び PGC-1 c の発現が安静時の数 10 数倍から 100 倍以上に著しく増加するのに対し既知 PGC-1 の発現増加はごく軽微であり、運動による PGC-1 の発現増加の本態は PGC-1 b 及び PGC-1 c が担うことを明らかとしている。



2. 研究の目的

本研究ではこのような代表者の成果を踏まえ、PGC-1 新規アイソフォームが運動時のエネルギー代謝変化にどのようにかわるかを明らかとすることを目的とする。

また、加齢や肥満は運動による代謝改善効果が減弱させることが知られているが、このような現象に PGC-1 新規アイソフォームが関わるか否かについても検討を進める。

また、PGC-1 新規アイソフォームによって制御される遺伝子の中で転写因子 KLF15 について解析を進め、代謝制御における KLF15 の役割を明らかとすることも目的とする。

3. 研究の方法

PGC-1 の新規な第一エクソンのみを欠失させることにより作成した PGC-1 新規アイソフォームの特異的欠損マウスのエネルギー代謝制御機構の破綻のメカニズムの詳細を検討することにより、PGC-1 の代謝制御における生理的役割や肥満や加齢における代謝異常発症への意義を明らかとする。

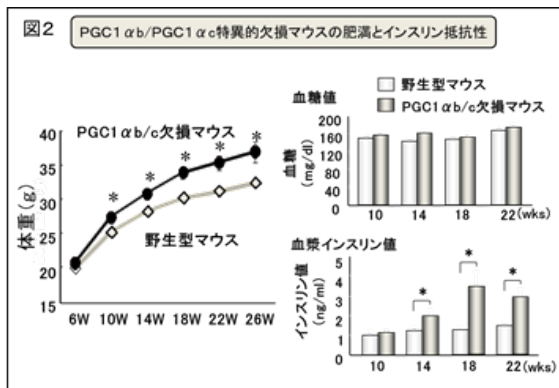
また、各種病態における骨格筋での PGC-1 新規アイソフォームの発現低下のメカニズムについて、特に アドレナリンシグナルとの関連の観点から、解析する。

KLF15 の代謝制御における役割については、今回新たに作成した KLF15 の遺伝子座に loxP 配列を挿入した KLF15-flox マウスと Cre リコンビナーゼを発現する MLC1f-Cre マウス (ニューヨーク大学 Steven Burden 博士より供与) との交配によって骨格筋特異的 KLF15 の欠損マウス作成し、その代謝変化について検討を進める。

4. 研究成果

PGC-1 新規アイソフォームの特異的欠損マウスは、6 週齢から対し対象に比べて有意な体重の増加を示し、それに伴い、血糖値には変化はないものの、高インスリン血症を発症した (図 2)。

次に、本マウスに対して食事制限を行い、体重を減少させた。食事制限によって体重野生型マウスと同程度の体重にまで減少させると、PGC-1 新規アイソフォーム欠損マウスの高インスリン血症が改善することも明らかとなった。このことから、PGC-1 新規



アイソフォーム特異的欠損マウスのインスリン抵抗性は肥満に起因すると考えられた。

また、PGC-1 新規アイソフォーム欠損マウスは野生型マウスに比べて、エネルギー消費が低下していた。24 時間のエネルギー消費について検討すると、明記のエネルギー消費に変化はないものの、マウスの活動量が増加する暗記にのみエネルギー消費が、野生型マウスと比較して有意に低下することが明らかとなった。また、活動量を評価した結果では、明記、暗記ともに野生型マウスと PGC-1

新規アイソフォーム欠損マウスの間はさばなかったことから、このマウスでは運動時のエネルギー消費が減弱すると考えられた。実際に、トレッドミル強制運動負荷により野生型マウスと PGC-1 新規アイソフォーム欠損マウスに同量のトレッドミル負荷運動を行った際にも、PGC-1 新規アイソフォーム欠損マウスでは、エネルギー消費が少ないことも明らかとなった。

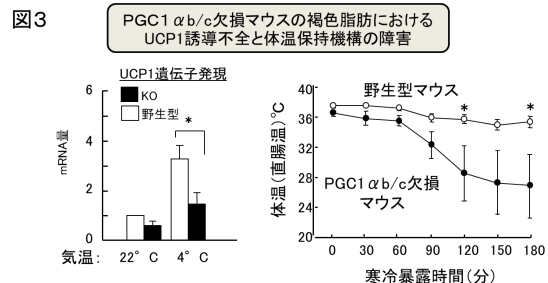
さらに、マウスの骨格筋に温度センサーを留置し、運動時の骨格筋温度を測定できるシステムも開発した。このシステムで運動中の骨格筋温度を測定したところ、野生型マウスではトレッドミル運動中に骨格筋温度が約 1.2 度上昇したが、PGC-1 新規アイソフォーム欠損マウスは野生型マウスでは骨格筋温の上昇が 80% 程度に抑制されていた。これらの結果から、PGC-1 新規アイソフォーム欠損マウスでは運動時の骨格筋温度の上昇が抑制され、その結果、運動時のエネルギー消費が減弱し、肥満を生じやすくさせると考えられた。実際に、一定量の運動負荷により野生型マウスでは脂肪量は 15% 減少したが、同量の運動負荷を与えても PGC-1 新規アイソフォーム欠損マウスでは脂肪量の減少が顕著に抑制された。

また、高脂肪食飼育による肥満マウスや db/db マウスなどの遺伝的肥満マウスでは安静時にも骨格筋の PGC-1 新規アイソフォームの発現量が野生型マウスより低下していたが、運動時依存性の発現増強効果も有意に低下することが明らかとなった。また、これらのマウスでは アドレナリン刺激による骨格筋での PGC-1 新規アイソフォームの発

現の増強が減弱しており、 β 2 アドレナリン受容体作動薬であるクレブテロールによる PGC-1 新規アイソフォームの発現の増強効果に対しても抵抗性を示すことも明らかとなった。さらに、このようなアドレナリン抵抗性は老齢の野生型マウスでも同様に求められたことから、肥満や老化に伴って生じる現象であると考えられた。

高脂肪食飼育による肥満マウスや db/db マウス、あるいは加齢マウスの骨格筋における各種の アドレナリン受容体の発現量を検討したところ、 β 1 アドレナリン受容体及び β 3 アドレナリン受容体の発現量は対照と差がなかったものの、 β 2 アドレナリン受容体の mRNA レベルでの発現量が有意に減少していた。このことから、肥満や加齢によって生じる骨格筋のアドレナリン感受性の低下は、少なくともその一部は β 2 アドレナリン受容体の発現量の低下によって生じると考えられた。

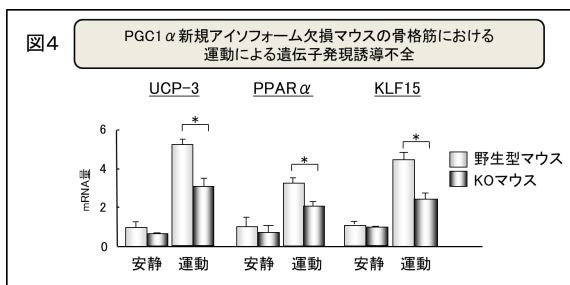
また、PGC-1 の新規アイソフォームは骨格筋に強く発現しているが、心臓及び褐色脂肪組織にも同程度の強い発現が見られた。褐色脂肪組織における PGC-1 の新規アイソ



フォームは、マウスを寒冷環境に置くと顕著にその発現が遺伝子レベルで増強した。また、PGC-1 の新規アイソフォーム欠損マウスは、寒冷環境においた際の褐色脂肪組織での UCP1 の発現増強が抑制されるとともに、体温維持が困難になることも明らかとなった (図 3)。このことは、PGC-1 の新規アイソフォームが褐色脂肪組織でのエネルギー消費や熱産生に重要な機能を果たすことを示唆している。

褐色脂肪組織でのエネルギー消費や熱産生は脂肪量の制御や肥満の解消に重要な役割を果たすと考えられているため、PGC-1 新規アイソフォームの特異的欠損マウスの肥満は褐色脂肪組織での本遺伝子の機能とも関連する可能性が示唆された。

PGC-1 新規アイソフォームの下流で機能するどのような遺伝子が運動によるエネルギー代謝の変化を制御するかを明らかとするため、PGC-1 新規アイソフォーム欠損マウスと野生型マウスで運動及び安静時の各種の代謝関連遺伝子の発現を解析した。その



結果、UCP3、PPAR に加えて転写因子 KLF15 の遺伝子レベルでの発現が、野生型マウスの骨格筋では運動により増強し、PGC-1 新規アイソフォーム欠損マウスの骨格筋では、それが抑制されることが明らかとなった(図4)。すなわち、KLF15 の発現は運動時には PGC-1 新規アイソフォームによって制御されると考えられた。

そこで、運動によるエネルギー代謝における KLF15 の役割を明らかにするため、骨格筋特異的 KLF15 欠損マウスを作成し、各種の解析を行った。

骨格筋特異的 KLF15 欠損マウスは PGC-1 新規アイソフォーム欠損マウスとは異なり、肥満やインスリン抵抗性は示さなかった。また、PGC-1 新規アイソフォーム欠損マウスでは運動による脂肪組織重量の減少や体重の減少が抑制されていたが、骨格筋特異的 KLF15 欠損マウスではこのような表現型は認めなかった。また、骨格筋特異的 KLF15 欠損マウスでは、PPAR をはじめとした骨格筋における運動時の代謝関連遺伝子の発現の抑制は生じなかった。

以上の結果から、運動時の骨格筋の代謝制御における PGC-1 新規アイソフォームの下流の機構においては、KLF15 の役割は限定的と考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 0 件)

[学会発表](計 7 件)

Kazuhiro Nomura, Masato Kasuga, Wataru Ogawa. Role of Novel variants of PGC-1 in the pathogenesis of obesity. International Symposium on Insulin Receptor and Insulin Action (IR2017), Niece, France, 2017. (招待講演)

野村和弘、細岡哲也、佐々木努、北村忠弘、阪上浩、春日雅人、小川涉. 骨格筋アドレナリン抵抗性の代謝制御における役割. 第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会. 名古屋, 2017 年. (一般口演)

野村和弘、細岡哲也、佐々木努、北村忠弘、阪上浩、春日雅人、小川涉. 肥満・

加齢における骨格筋の質的・量的変化制御のメカニズム. 第 38 回日本肥満学会. 大阪, 2017 年 (招待講演).

野村和弘、細岡哲也、佐々木努、北村忠弘、阪上浩、春日雅人、小川涉. エネルギー代謝制御における骨格筋アドレナリンシグナルの重要性と肥満病態形成における役割. 第 54 回日本臨床分子医学会学術集. 東京, 2017 年 (一般口演)

野村和弘、小川涉. エネルギー代謝制御における骨格筋アドレナリンシグナルの重要性と肥満病態形成における役割. 第 37 回日本肥満学会, 東京, 2016 年 (招待講演).

Ogawa W. Role of PGC-1 α in regulation of fat mass and muscle development. 2015 International Congress on Obesity and Metabolic Syndrome. Korea, Seoul, 2015 (招待講演).

野村和弘、小川涉. 肥満病態形成における骨格筋アドレナリン抵抗性の関与と PGC-1 新規アイソフォームの役割. 第 58 回日本糖尿病学会年次学術集会. 下関, 2015 年 (一般口演).

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

[その他]

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小川 涉 (OGAWA, Wataru)

神戸大学・大宇学院医学研究科・教授

研究者番号: 40294219

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

野村和弘 (NOMURA, Kazuhiro)

神戸大学・医学部附属病院・医員

研究者番号: 70450236

(4) 研究協力者

該当なし