

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08281

研究課題名(和文) 褐色脂肪細胞を標的としたAng 1-7の肥満治療への探索

研究課題名(英文) Investigation of an anti-obesity effect of Ang 1-7 via activation of brown adipocyte

研究代表者

森 潤 (Mori, Jun)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：20750011

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は研究代表者が示したAng 1-7の肥満における代謝改善作用に、褐色脂肪細胞の持つエネルギー消費作用に着目し、実験を行い下記の知見を証明した。

1) Ang1-7が褐色脂肪細胞(BAT)を分化・増殖させエネルギー消費を増加させることで体重減少効果を発揮すること、2) Ang1-7はBATにおいてノルエピネフリンを介したHSL (hormone sensitive lipase)の活性化と perilipinの不活性化により脂肪分解を促しインスリン抵抗性を改善させること、3) Ang1-7の熱産生/エネルギー消費効果には白色脂肪細胞の褐色脂肪細胞化を伴わないことを報告した。

研究成果の概要(英文)：We hypothesized that Ang 1-7 has anti-obesity effects mediated via increased formation of brown adipose tissue (BAT) and demonstrated the following findings.

1) Ang 1-7 exerts anti-obesity effects by increasing energy expenditure via brown adipocyte differentiation, 2) Ang 1-7 ameliorates insulin signaling in BAT accompanied with the decreased lipid droplets, the activation of HSL and the deactivation of perilipin through NE, 3) Ang 1-7 upregulates thermogenesis independent of browning in subcutaneous WAT.

研究分野：小児代謝内分泌

キーワード：肥満 褐色脂肪細胞 エネルギー代謝

1. 研究開始当初の背景

肥満は先進国のみならず発展途上国も含む世界中で増加傾向である。それに伴って肥満による糖尿病や心臓病が増えており、死亡率の増加という医療的な問題のみならず、合併症の治療や管理にかかる医療費の増大が、医療経済的側面からも大きな問題となっている。しかし、治療の基本は依然食事療法と運動療法であり、実際の臨床の現場では、食事療法と運動療法のみで肥満を解消することは難しく、有効な薬物療法の出現が期待されている。

2. 研究の目的

Angiotensin 1-7 (Ang 1-7) は、renin-angiotensin system (RAS) の new family で、Angiotensin II (Ang II)/Angiotensin II type1 受容体 (AT1R) に拮抗作用を持つ。研究代表者は独自に作出した肥満マウスモデル (db/db マウス) 表現形解析により、Ang 1-7 が摂食量を減少することなく体重・脂肪減少効果を発揮することを解明したが、その詳細な分子機序は不明である (Circ Heart Fail 7: 327, 2014)。そのため、本研究では、Ang 1-7 の持つ抗肥満効果に褐色脂肪細胞 (Ang 1-7 発現量が多く、運動に抛らない熱産生によるエネルギー消費の最大組織) が本モデルマウス表現形表出に関わる (特に ATGL がその調節に関与している) と仮説し、代謝活性測定や形態学的検討を駆使してその分子メカニズムを解明し、Ang 1-7 の褐色脂肪細胞における抗肥満薬分子標的を特定することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 実験モデルの作成

生後 4 週の C57BL/6J マウスを普通食と高脂肪食 (60%脂肪) で 8 週間飼育する。更に、飼育開始 4 週間後から Ang 1-7 ($0.5\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) またはプラセボとして生食の投与を行う。投与方法は、頸部の皮下に浸透圧ポンプを植え込み、2 週間毎に交換を行う。経過中、食事摂取量、体重増加、各種臓器の重量などを測定して、各群間での比較検討を行う。

(2) Ang 1-7 の全身の代謝への影響の評価

糖負荷試験・インスリン負荷試験でインスリン抵抗性、酸素消費量測定で全身の代謝の評価を行う。

(3) Ang 1-7 の褐色脂肪細胞に対する影響の評価

サーモグラフィーを用いた褐色脂肪組織の温度測定、寒冷刺激 (4、4 時間) による直腸温測定で褐色脂肪細胞の機能を評価する。また組織学的評価として H&E 染色による褐色脂肪細胞中の脂肪滴の大きさを評価する。Western-blotting や real time PCR で Prdm16 や UCP1 などの蛋白や mRNA の発現の評価を行う。更に褐色脂肪細胞において Ang 1-7 が脂肪分解に関係する因子 (HSL、ATGL、ペリリピン) に与える影響について評価を行う。

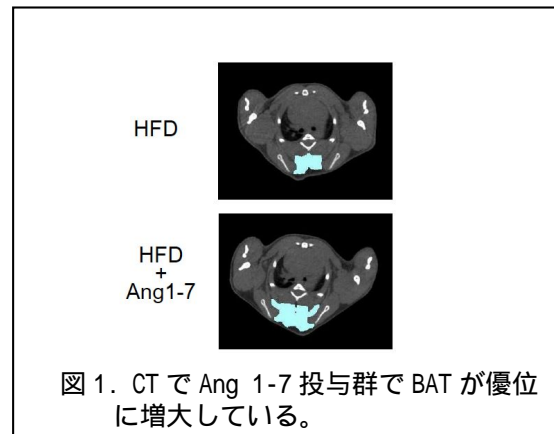
(4) Ang 1-7 による白色脂肪細胞のベージュ化への評価

Western-blotting や real time PCR により UCP1 の蛋白や mRNA の発現の評価を行う。

4. 研究成果

(1) Ang1-7 は褐色脂肪細胞の分化を誘導する。

高脂肪食飼育 Ang 1-7 投与群 (HFD+Ang 1-7) では、高脂肪食飼育生食投与群 (HFD+NC) に比較して食餌摂取量に差はなく体重減少を認めた。褐色脂肪細胞の重量は HFD+Ang1-7 群で優位に増大した (図 1)。また、酸素消費量測定では昼夜ともに HFD-Ang 1-7 群で酸素消費量の増加を認めた。サーモグラフィーを用いた室温での褐色脂肪細胞の表面温度測定では差を認めなかったが、4 の寒冷刺激下の直腸温は HFD+Ang 1-7 群で上昇していた。Ang 1-7 投与により褐色脂肪細胞の重量増加、UCP1 の mRNA、蛋白発現ともに上昇していた。また HF+Ang 1-7 群では褐色脂肪細胞への分化を調節する転写因子である PRDM16 の蛋白発現が上昇していた。これらの結果から Ang 1-7 は褐色脂肪細胞を増殖し、エネルギー消費を増加させることにより体重減少効果を発揮すると考えられた。



(2) Ang1-7 はノルエピネフリンを介した HSL 活性化、ペリリピン不活性化で脂肪滴を減少させることによりインスリンシグナルを改善する。

Ang 1-7 投与により褐色脂肪細胞の重量は増加したが、H&E 染色で褐色脂肪細胞の脂肪滴の大きさを評価したところ HF+Ang 1-7 群の脂肪細胞の大きさは HF+NC 群と比較して著明に縮小していた。脂肪分解に関わる因子では ATGL に変化を認めなかったが、HSL は Ang 1-7 投与により上昇していた。また脂肪分解から脂肪を守るペリリピンは低下していた。

糖負荷試験・インスリン負荷試験で Ang 1-7 投与により全身のインスリン抵抗性が改善していることを確認した。褐色脂肪細胞の重量は脂肪細胞のインスリン感受性に関係していると報告されている (Cell Metab 23: 1200, 2016)。更に HF+Ang 1-7 群では褐色脂肪細胞でインスリンシグナル (PI3K/Akt/mTOR) が改善していることを確

認した。

(3) Ang1-7の熱産生には白色脂肪細胞のベージュ化は関与しない。

Ang 1-7 投与により鼠径部の皮下白色脂肪細胞の大きさは縮小を認めたが、Western-blotting や real time PCR により UCP1 の蛋白や mRNA の発現解析では HF+NC 群と HF+Ang 1-7 群で有意差を認めなかった。これらの結果は、Ang 1-7 投与による体重減少に白色脂肪細胞のベージュ化が関与していることを示している。

(4) 褐色脂肪細胞の分化・増殖に AMPK/mTOR シグナルが関与している。

AMPK と mTOR は相互に関連して褐色脂肪細胞化に関与している (*IUBMB Life* 65: 572, 2013)。Ang 1-7 投与により褐色脂肪細胞で AMPK と mTOR が上昇しており、本研究における褐色脂肪細胞の増殖に関与していることが示唆された。

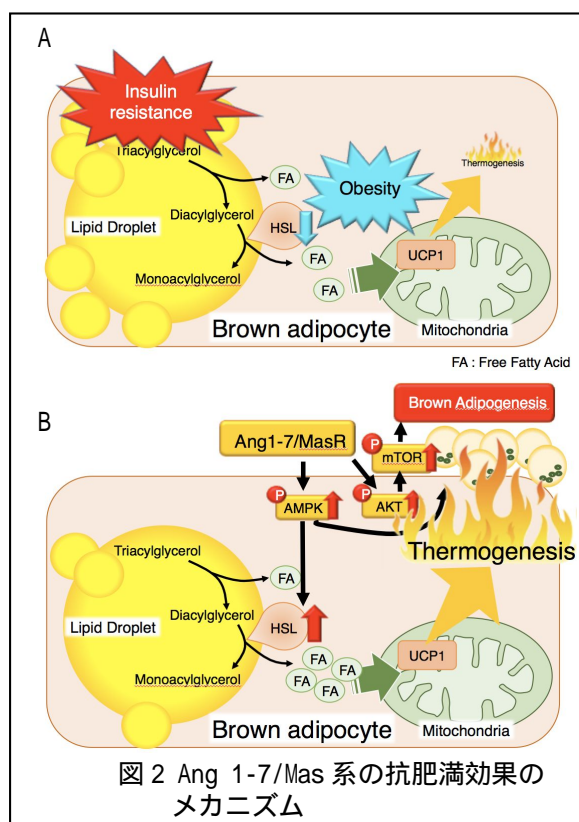


図 2 Ang 1-7/Mas 系の抗肥満効果のメカニズム

肥満では HSL が低下し脂肪滴が貯留するためにインスリン抵抗性が生じ、また遊離脂肪酸が減少することにより UCP1 を介した熱産生が低下する (図 2A) が、Ang1-7/MasR 系は AMPK を介して HSL を活性化して脂肪分解を促し熱産生を増強するとともに AMPK と Akt/mTOR の相互作用により褐色脂肪細胞を増やして熱産生を増大して体重減少効果を発揮すると考えられた (図 2B)。

本研究の結果から Ang 1-7/Mas 系の抗肥満効果に対する褐色脂肪細胞の関わり方のメカニズムの一端が明らかになった。今後の更な

る研究により Ang 1-7/Mas 系の抗肥満効果の分子標的が更に明らかになれば将来的な臨床応用が期待できる。

<引用文献>

Mori J, Patel VB, Abo Alrob O, Basu R, Altamimi T, Desaulniers J, Wagg CS, Kassiri Z, Lopaschuk GD, Oudit GY. Angiotensin 1-7 Ameliorates Diabetic Cardiomyopathy and Diastolic Dysfunction in db/db Mice by Reducing Lipotoxicity and Inflammation. *Circ Heart Fail* 7; 327-39, 2014

Chondronikola M, Volpi E, Børsheim E, Porter C, Saraf MK, Annamalai P, Yfanti C, Chao T, Wong D, Shinoda K, Labb SM, Hurren NM, Cesani F, Kajimura S, Sidossis LS. Brown Adipose Tissue Activation Is Linked to Distinct Systemic Effects on Lipid Metabolism in Humans. *Cell Metab* 23: 1200-1206, 2016

Fernández-Veledo S, Vázquez-Carballo A, Vila-Bedmar R, Ceperuelo-Mallafre V, Vedrell J. Role of energy- and nutrient-sensing kinases AMP-activated Protein Kinase (AMPK) and Mammalian Target of Rapamycin (mTOR) in Adipocyte Differentiation. *IUBMB Life* 675: 572-583, 2013

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1件)

Morimoto H, Mori J, Nakajima H, Kawabe Y, Tsuma Y, Fukuhara S, Kodo K, Ikoma K, Matoba S, Oudit GY, Hosoi H. Angiotensin 1-7 stimulates brown adipose tissue and reduces diet-induced obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 314: E131, 2018. 査読有

[学会発表](計3件)

森元英周、森 潤、都間佑介、福原正太、茂原慶一、中島久和 . Angiotensin 1-7 の抗肥満効果には褐色脂肪細胞の分化・増殖が関与する . 第 38 回日本肥満学会 . 大阪 .

2017.10.7~8.

Morimoto H, Mori J, Tsuma Y, Fukuhara S, Shigehara K, Kodo K, Nakajima H, Hosoi H. Ang 1-7 exerts anti-obesity effect through proliferation of BAT. Free Communication session at 10th International Meeting of Pediatric Endocrinology. Washington DC, USA, September 14-17, 2017

森元英周、森 潤、都間佑介、福原正太、茂原慶一、中島久和、細井 創 .Angiotensin 1-7 のもつ抗肥満効果の解明；褐色脂肪細胞に着目して .第 90 回日本内分泌学会 .京都 . 2017.4.20~22 .
〔図書〕(計 件)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

森 潤 (MORI, Jun)

京都府立医科大学・医学研究科・助教

研究者番号：20750011

(2)研究分担者

中島 久和 (NAKAJIMA, Hisakazu)

京都府立医科大学・医学研究科・講師

研究者番号：80363985

的場 聖明 (MATOBA, Satoaki)

京都府立医科大学・医学研究科・教授

研究者番号：10305576

(3)研究協力者

森元 英周 (MORIMOTO, Hidechika)

京都府立医科大学大学院・大学院医学研究科・大学院生

河辺 泰宏 (KAWABE, Yasuhiro)

京都府立医科大学大学院・大学院医学研究科・大学院生

幸道 和樹 (Kodo, Kazuki)

京都府立医科大学・医学研究科・助教

研究者番号：60783397

生駒 和也 (Ikoma, Kazuya)

京都府立医科大学・医学研究科・助教

研究者番号：50516044