

平成30年 5月28日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09407

研究課題名(和文) 肝臓でのmTOR制御シグナルのメタボリックシンドロームに及ぼす役割の解明

研究課題名(英文) Hepatic amino acid-mTOR pathway plays an important role in the development of metabolic syndrome

研究代表者

宇野 健司 (Uno, Kenji)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：50596632

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：生体内には、脳を中心とした臓器間神経ネットワークが存在し、代謝の恒常性維持機構としての役割を担うとされる。しかし、過栄養の下では、こうした調節機構の破綻により、メタボリックシンドロームの病態の増悪に繋がることも解明されてきた。本研究では、三大栄養素であるアミノ酸とその下流のmTOR経路に着目し、組換えアデノウイルスを用いて肝臓でのアミノ酸代謝とmTOR経路を活性化させたマウスを作製した。この検討から、アミノ酸と脂質代謝を繋ぐ新しい調節機構の存在が発見され、その制御には臓器間神経ネットワークが介在していることが解明された。今後は、この新たな栄養素の制御機構を応用すべく、更なる検討が必要である。

研究成果の概要(英文)：In mammals, the interorgan neuronal network, centered upon the brain, is considered to play an important role in maintaining metabolic homeostasis in the whole-body levels. However, it has been demonstrated that nutrient overloads due to food energy excess deteriorates this neuronal system and then contributes to the development of obesity and metabolic syndrome. In this study, we focus on both hepatic amino acid (AA) metabolism and mTOR pathway, the downstream target of AA signaling. Modulation of hepatic AA-mTOR pathway through adenoviral gene delivery system has identified the internutrient coordination among AA and lipid metabolism, which is mediated by interorgan neuronal system. In the future, the additional works are needed to clarify new neuronal networks and molecular targets for the regulation of these networks.

研究分野：医歯薬学

キーワード：メタボリックシンドローム mTOR 肥満 臓器間神経ネットワーク 糖代謝

1. 研究開始当初の背景

生物界において、個体の代謝は各臓器の代謝が連携してネットワークを形成することで、その恒常性を維持している。研究代表者は、肝臓の代謝変化が臓器・組織間のネットワークを介して個体の代謝に及ぼす影響を及ぼすのか、その機構を解明してきた。まず、肝臓での脂肪代謝に着目し、組換えアデノウイルス法による遺伝子導入技術を用いて、肝臓選択的に PPAR γ 2 を過剰発現させたモデルマウスを解析することにより、肝臓から神経系を介した新規の臓器間代謝調節ネットワークの存在を証明した(Uno et al. Science 312, 1656-59, 2006)。この機構は、肝臓自体が肝 PPAR γ 2 発現増加によるエネルギー蓄積を感知し、求心性-遠心性自律神経により構築される神経ネットワークを介して、全身でのエネルギー消費を増加させる役目を担う。これは、過栄養による肥満進展に対して防御機構として働くという役割を担っている。次に、肥満の病態において交感神経の活性化が持続することで、このネットワーク機構が高血圧の形成・増悪に関与することも見出した(Uno et al. Eur Heart J 33, 1279-89, 2012)。これら一連の研究成果は、肝臓から発せられる神経シグナルの生理的役割とともに、メタボリックシンドローム形成に及ぼす病態生理学的影響に関しても言及している。

また、研究代表者は、肝臓での Erk 経路に由来する神経系による臓器間ネットワークが、膵 β 細胞の増殖を介してインスリン分泌を促し、糖代謝の調節に関与することを示す研究にも参画した(Science 322, 1250-4, 2008)。さらに、肝臓での Glucokinase に由来する神経系による臓器間ネットワークが、肥満に対する儉約システムとして機能していることを示す研究にも参画した(Cell Metabolism 16, 825-32, 2012)。このように、肝臓(他臓器も含めて)は種々の神経ネ

ットワークを構築することにより、全身の代謝調節を司るという根源的な役割を果たしている。しかし現段階では、生体内には未だ解明されていない未知のネットワーク機構が存在すると推測され、さらなる研究が必要とされる。

2. 研究の目的

哺乳生物の個体では、各臓器が調和を保つことで代謝の恒常性が維持される。ところが、過栄養や運動不足など様々な因子による肥満の病態下では、こうした糖・脂質・エネルギー代謝の制御異常が見られる。研究代表者は、肝臓からの代謝情報が、神経系を介して脂肪組織を初めとする全身臓器の代謝に影響を与える臓器間神経ネットワークを世界に先駆けて証明した。さらに、この臓器間ネットワークが肥満に伴う高血圧の病態増悪に寄与するという新たな病態生理を解明した。

本研究では、こうした研究成果を基盤として、アミノ酸代謝と、生命現象に必要な蛋白合成やオートファジー経路へと繋ぐ mTOR 経路、特に肝臓における mTOR 制御シグナルがメタボリックシンドロームにおいて果たす役割と意義について、遺伝子工学的アプローチと病態マウスモデルを用いて解明することを目的にする。

3. 研究の方法

- (1)肝臓においてアミノ酸トランスポーター-SNAT2 を発現したマウスの解析；
- (2)肝臓における mTOR 経路を活性化した Rheb モデルマウスの解析；
SNAT2 及び mTOR 経路活性化因子 Rheb アデノウイルスを用いて肝臓へ遺伝子導入したモデルマウスを作製する。

これらのマウスでは実際に肝 mTOR 経路の活性化が確認された。各種代謝パラメーターの検討(体重・基礎代謝・摂食量・運動量などエネルギー代謝、血糖値や糖負荷試

験による糖代謝、インスリン負荷試験によるインスリン感受性、血中脂質プロファイルによる脂質代謝検討)を行う。

(3)神経系を介したネットワークが個体の代謝に及ぼす機序の解明；

肝からの迷走神経・内臓神経の脳へ向かう求心性経路と、脂肪組織への遠心性神経路(βアドレナリン交感神経系)に注目し、求心系神経線維や遠心系神経系の選択的遮断剤(カプサイシンやβブロッカー)を用いて、それぞれ選択的な神経経路の遮断を試みる。神経線維の選択的な遮断の確認は、特異的な免疫抗体(抗S100抗体及び抗CGRP抗体)を用いた免疫組織学的な検討で可能である。こうした処置で選択的に神経経路を遮断したモデルマウスを用いて、SNAT2及びRhebを遺伝子導入した場合に、糖・脂質プロファイルや脂肪組織を含めた各臓器の遺伝子発現の変化に及ぼす影響を及ぼすのかについて検討する。

(4)肥満モデルにおいて mTOR 経路の抑制が及ぼす効果の解明；

Dominant negative S6K アデノウイルスを用いて、肥満モデルマウスの肝臓に遺伝子導入し、糖・脂質プロファイルに及ぼす影響を検討する。

4 . 研究成果

(1)SNAT2 及び(2)Rheb マウスでの脂質代謝の影響の解析；

これらのモデルマウスでは、全身の代謝変化の検討の中で、特に食後の血清中性脂肪値の著明な上昇と、脂肪酸負荷時の血清中性脂肪の上昇度の増加を認めた。また、脂肪組織でのリポ蛋白リパーゼ(LPL)の発現低下を認めたことや血中中性脂肪加水分解活性の低下を認めたこと、さらに脂肪酸負荷の結果を考慮すると、血清中性脂肪分解の抑制機構が関与し高中性脂肪血症を来す新たな機序が考えられた。

(3)SNAT2 及び Rheb マウスでの脂肪組織 LPL 及び脂質代謝の調節機序の解明；

これらのモデルマウスの脂肪組織での LPL の発現変化や脂質プロファイルが、脳への求心路の一つである迷走神経肝臓枝の切断術を行うことで遮断された。さらに、求心性の遮断剤カプサイシン処置や、βブロッカーの投与により脂肪組織 LPL の発現変化と脂質プロファイルがキャンセルされた。以上から、肝臓におけるアミノ酸 - mTOR 経路が、肝臓 - 脳 - 脂肪組織への神経系ネットワークを介して個体としての脂質代謝を調節する、新たな調節機構が生体内には存在することが示された。

(4)肥満モデルで mTOR 経路抑制はメタボリックシンドロームを改善する；

遺伝的肥満 ob/ob マウスに Dominant negative S6K アデノウイルスを導入すると、食後の高中性脂肪血症は改善した。脂肪組織 LPL の発現は上昇し、血中の LPL 活性も上昇を認めた。

これらより、肝臓の mTOR 経路を調節することにより、全身の脂質代謝を制御できる可能性が示唆された。

以上の研究成果は、筆頭著者として国際誌(Uno K. *Diabetology International*, 2016. 及び, Uno K, et al. *Nature Communications*, 2015.)に発表した。

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 13 件)

1. Midori Honma, Kenji Uno (18人中11番目), Hideki Katagiri. Selective insulin resistance with differential expressions of IRS-1 and IRS-2 in human NAFLD livers. *International Journal of Obesity*, doi: 10.1038/s41366-018-0062-9, 2018. 査読有

2. Rei Kaneko, **Kenji Uno** (16人中9番目), Hideki Katagiri. Serum cystatin C level is associated with carotid arterial wall elasticity in subjects with type 2 diabetes mellitus: A potential marker of early-stage atherosclerosis. *Diabetes Research and Clinical Practice* 139: 43-51, doi: 10.1016/j.diabres.2018.02.003, 2018. 査読有
 3. Yuichiro Munakata, **Kenji Uno** (18人中12番目), Hideki Katagiri. Olfactory receptors are expressed in pancreatic β -cells and promote glucose-stimulated insulin secretion. *Scientific Reports* 8: 1499 doi:10.1038/s41598-018-19765-5, 2018. 査読有
 4. Junpei Yamamoto, **Kenji Uno** (19人中10番目), Hideki Katagiri. Neuronal signals regulate obesity induced β -cell proliferation by FoxM1 dependent mechanism. *Nature Communications* 8:1930,doi:10.1038/s41467-017-01869-7, 2017. 査読有
 5. Toru Suzuki, **Kenji Uno** (16人中7番目), Hideki Katagiri. ER Stress Protein CHOP Mediates Insulin Resistance by Modulating Adipose Tissue Macrophage Polarity. *Cell Reports* 18: 2045-2057, 2017. 査読有
 6. Yoichiro Asai, **Kenji Uno** (26人中16番目), Hideki Katagiri. Activation of the Hypoxia Inducible Factor 1 α Subunit Pathway in Steatotic Liver Contributes to Formation of Cholesterol Gallstones. *Gastroenterology* 152: 1521-1535, 2017. 査読有
 7. Sohei Tsukita, **Kenji Uno** (17人中14番目), Hideki Katagiri. MicroRNAs 106b and 222 Improve Hyperglycemia in a Mouse Model of Insulin-Deficient Diabetes via Pancreatic β -Cell Proliferation. *EBioMedicine* 15: 163-172, 2017. 査読有
 8. **宇野健司**. メタボリックシンドロームの病態形成における臓器間神経ネットワークの意義の解明. 東北医学雑誌, 東北医学会, 宮城, 129 (1), 59-60, 2017.
 9. **Kenji Uno**. Roles of the interorgan neuronal network in the development of metabolic syndrome. *Diabetology International*, doi: 10.1007/s13340-016-02777-8, 2016. 査読有
 10. Chiba Yumiko, **Kenji Uno** (14人中10番目), Hideki Katagiri. Dapagliflozin, a Sodium-Glucose Co-Transporter 2 Inhibitor, Acutely Reduces Energy Expenditure in BAT via Neural Signals in Mice. *PLoS One* 11: e0150756, 2016. 査読有
 11. **宇野健司**. メタボリックシンドロームの病態形成における臓器間神経ネットワークの意義の解明. 糖尿病 59 巻 10 号 Page700-702, 2016.
 12. **Kenji Uno** (11人中1番目), Hideki Katagiri. A hepatic amino acid/mTOR/S6K-dependent signalling pathway modulates systemic lipid metabolism via neuronal signals. *Nature Communications* 6:7940 doi: 10.1038/ncomms8940, 2015. 査読有
 13. Mamiko Tanaka, **Kenji Uno** (13人中7番目), Hideki Katagiri. Impact of the Great East Japan Earthquake on diabetic patients. *Journal of Diabetes Investigation* 6: 577-586, 2015. 査読有
- 〔学会発表〕(計 15 件)
1. 澤田正二郎, **宇野健司** (18人中11番目), 片桐秀樹, 第60回日本糖尿病学会年次学術集会、非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD)における肝インスリンシグナ

- ル関連遺伝子の発現解析、一般演題、
2017年5月18-20日(名古屋)
2. 突田壮平、**宇野健司** (14人中11番目)、片桐秀樹、第60回日本糖尿病学会年次学術集会、microRNA-106b/-222はインスリン分泌の低下した糖尿病マウスにおいて、膵β細胞増殖を促進し血糖値を改善する、一般演題、2017年5月18-20日(名古屋)
 3. **宇野健司**、第37回日本肥満学会、肥満における臓器間神経ネットワーク機構の発見とメタボリックシンドローム発症機序の解明、日本肥満学会学術奨励賞受賞講演、2016年10月7-8日(東京)
 4. **宇野健司**、片桐秀樹、第37回日本肥満学会、臓器間神経ネットワークが担う新たな栄養素間ネットワーク機構、招待講演(シンポジウム)、2016年10月7-8日(東京)
 5. **宇野健司**、片桐秀樹、第39回日本高血圧学会総会、臓器間神経ネットワークが有するメタボリックシンドローム発症機序、招待講演(シンポジウム)、2016年9月30日-10月2日(仙台)
 6. **宇野健司**、第59回日本糖尿病学会年次学術集会、メタボリックシンドロームの病態形成における臓器間神経ネットワークの意義の解明、日本糖尿病学会賞(リリー賞)受賞講演、2016年5月19-21日(京都)
 7. 宗像佑一郎、**宇野健司** (20人中15番目)、片桐秀樹、第59回日本糖尿病学会年次学術集会、嗅覚受容体は膵β細胞に発現しグルコース応答性インスリン分泌を促進する、一般演題、2016年5月19-21日(京都)
 8. **宇野健司**、片桐秀樹、第93回日本生理学会大会、肝からの臓器間ネットワークを介した新たな脂質代謝調節機構の解明、招待講演(シンポジウム)、2016年3月22-24日(札幌)
 9. **宇野健司**、片桐秀樹、CVMW 心血管代謝週間2015、脂質代謝を調節する肝からの新たな臓器間神経ネットワーク、招待講演(シンポジウム)、2015年12月10-12日(神戸)
 10. 浅井洋一郎、**宇野健司** (26人中16番目)、片桐秀樹、日本生化学会大会・日本分子生物学会年会合同大会、肝臓におけるhypoxia-inducible factor 1αの活性化はコレステロール胆石形成を促進する、一般演題、2015年12月1-4日(神戸)
 11. 鈴木亨、**宇野健司** (12人中9番目)、片桐秀樹、第36回日本肥満学会、ERストレスタンパクCHOPは脂肪組織マクロファージ極性変化を介してインスリン抵抗性を調節する、一般演題、2015年10月2-3日(名古屋)
 12. **Kenji Uno**, Hideki Katagiri., The 75th scientific sessions of American Diabetes Association, Neuronal signals from the hepatic amino acid/mTOR/S6K pathway regulates systemic lipid metabolism. 一般講演, Poster, June 5-9, 2015 (USA)
 13. 宗像佑一郎、**宇野健司** (19人中15番目)、片桐秀樹、第58回日本糖尿病学会年次学術集会、オクタン酸はG蛋白共役型受容体を介してグルコース応答性インスリン分泌を促進する、一般演題、2015年5月21-24日(下関)
 14. 澤田正二郎、**宇野健司** (12人中9番目)、片桐秀樹、第58回日本糖尿病学会年次学術集会、1型糖尿病における細小血管合併症と血糖変動の関連性、一般演題、2015年5月21-24日(下関)
 15. 鈴木亨、**宇野健司** (13人中10番目)、片桐秀樹、第58回日本糖尿病学会年次学術集会、小胞体ストレスタンパクCHOPは脂肪組織マクロファージ極性変化を介し

てインスリン抵抗性を調節する、一般演
題、2015年5月21-24日(下関)

〔図書〕(計 7 件)

1. **宇野健司**：プラクティス・セレクション
糖尿病医療を志す 先達から若き人へ贈
る言葉 129, 医歯薬出版株式会社, 東京,
122-123, 2017.
2. **宇野健司**、片桐秀樹：「臓器間神経ネット
ワークを介した栄養素の代謝調節機構」
医学の歩み 特集「病態栄養学 UPDATE」,
医歯薬出版株式会社, 東京, 259(10),
1077-1081, 2016.
3. **宇野健司**、片桐秀樹：「臓器連関のフロン
ティア」Diabetes Frontier 特集 アディ
ポサイエンス・フロンティア, メディカ
ルレビュー社, 大阪, 27 (3), 331-336,
2016.
4. **宇野健司**、片桐秀樹：「メタボリックイン
フォメーションハイウェイ」日本臨牀「新
時代の臨床糖尿病学(上)」, 日本臨牀社,
大阪, 74 (増刊号 1), 193-197, 2016.
5. **宇野健司**、片桐秀樹：「神経シグナルを介
した臓器間・栄養素間ネットワーク」実
験医学増刊「解明」から「制御」へ 肥満
症のメディカルサイエンス, 羊土社, 東
京, 34 (2), 203-207, 2016.
6. **宇野健司**、片桐秀樹：「臓器間神経ネット
ワークによる糖・エネルギー代謝調節機
構」腎・高血圧の最新治療 特集「臓器
連関」, フジメディカル出版, 大阪, 5 (1),
10-15, 2016.
7. **宇野健司**、片桐秀樹：「臓器連関による
糖・脂質代謝調節」細胞 特集 臓器間
ネットワークの解明, ニューサイエンス
社, 東京, 47 (10), 488-491, 2015.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宇野 健司 (UNO, KENJI)
東北大学・大学病院・助教
研究者番号：50596632