

令和元年5月7日現在

機関番号：34512

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09524

研究課題名(和文) 血管内皮一成熟脂肪細胞ネットワークによる新規脂肪血管新生・恒常性維持機構の解明

研究課題名(英文) Elucidating a role of cross-talk between endothelial cell and adipocyte in the maintenance of adipose tissue homeostasis

研究代表者

池田 宏二 (KOJI, IKEDA)

神戸薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：90423871

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、私達が独自に見出した肥満関連代謝異常に関わる2つの候補遺伝子(Nrg4とFam13a)についてその機能解析を行った。Fam13aはIRS-1のプロテアソーム分解を阻害する結果、脂肪細胞のインスリンシグナルを増強した。Fam13aを欠損したマウスでは、全身のインスリン感受性が低下することを明らかとした。一方Nrg4は血管新生を誘導する新規のアディポカインであることを見出した。Nrg4を欠損したマウスでは脂肪組織の血管密度が低下する結果、肥満および肥満関連代謝異常が増悪した。Fam13a、Nrg4の活性化は肥満に伴う代謝異常に対する全く新しい治療戦略になり得ると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肥満やメタボリック症候群は、動脈硬化を進展させて心血管疾患の発症リスクを増大させるため、その健康被害は甚大です。私達はこれら病態に関わる2つの遺伝子(Fam13aとNrg4)を発見し、その機能を解明しました。本研究成果によって、肥満・代謝異常の未知の仕組みが明らかになったとともに、Fam13aおよびNrg4の活性化が肥満・メタボリック症候群の発症を予防する効果が示されたことは大変意義深いです。

研究成果の概要(英文)：We have identified two candidate genes, Nrg4 and Fam13a, which are involved in the pathogenesis of obesity and its-related metabolic disorders. We found that Fam13a accentuated adipocyte insulin signaling by inhibiting proteasomal degradation of IRS-1. Genetic deletion of Fam13a improved systemic metabolic health in mice through preserving adipose tissue insulin signaling. On the other hand, we revealed that Nrg4 is a novel angiogenic adipokine. Loss of Nrg4 caused reduction in adipose tissue vasculatures, and exacerbated obesity and its-related metabolic disorders. Because Fam13a and Nrg4 expression in adipocytes substantially decreased during obesity, activation of Fam13a and/or Nrg4 has a therapeutic potential for obesity-related metabolic disorders.

研究分野：血管生物学

キーワード：肥満 メタボリック症候群 脂肪組織 インスリンシグナル 血管新生

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肥満は我が国を含む先進国だけでなく一部の途上国においても増加の一途を辿っており、その健康被害は甚大である。2013年の世界の成人における過体重・肥満の割合は男性で37%、女性で38%であり、その数は21億人と30年前の2.5倍に増加したことが報告された。過度の肥満は糖代謝異常や脂質代謝異常を惹起し、心血管疾患発症リスクを著しく増大させる。肥満は脂肪機能を障害して、糖・エネルギー代謝障害を引き起こすと考えられているが、肥満から脂肪機能障害に至る分子メカニズムには不明な点が多い。肥満関連代謝異常の予防および治療のためには肥満と脂肪機能異常を結ぶ未知のメカニズムの解明が必須である。

私達は、脂肪組織の血管新生が肥満に伴う白色脂肪の慢性炎症や褐色脂肪の熱産生能低下に非常に重要な役割を果たしており、脂肪血管新生が肥満・メタボリック症候群の新たな治療標的と成り得ることを報告した(PNAS 2009, PNAS 2011, Nat Commun 2013)。全ての血管の内層を覆う血管内皮細胞は血管新生・透過性・収縮拡張・凝固線溶などの血管機能を制御するだけでなく、多くの生理活性物質(アンジオクリン因子)を分泌して、各臓器の恒常性維持に必須の役割を果たしている。しかし、脂肪組織におけるアンジオクリンの役割については現在までほとんど解明されていない。一方、脂肪細胞はアディポネクチンやレプチンを含む多くの生理活性物質を分泌する内分泌臓器であるが、これらアディポクリンを介した脂肪血管機能調節機構の全容は明らかとなっていない。

2. 研究の目的

本研究課題では**血管内皮細胞と成熟脂肪細胞の機能的ネットワーク**に焦点を当て、**未知の脂肪血管新生制御機構と脂肪血管内皮細胞による新しい脂肪組織恒常性維持機構**を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

脂肪組織におけるアンジオクリン・アディポクリン分子を同定するために、私達は成熟脂肪細胞に多く発現する遺伝子の中で、血管内皮細胞によって発現が調節される遺伝子群の探索をマイクロアレイ法にて行った。その結果、**機能が不明な2つの分子(Nrg4とFam13a)を発見した**。これら2つの分子はいずれも成熟脂肪細胞で非常に多く発現しており、その発現レベルはアンジオクリンにより負の制御を受けていた。本研究ではこれら2つの遺伝子のノックアウトおよびトランスジェニックマウスを作出し、その代謝表現型を解析することでNrg4およびFam13aによる新規の**脂肪組織恒常性維持機構の解析を行った**。

4. 研究成果

<Fam13a>

Fam13aを欠損した(Fam13a-KO)マウスは野生型マウスと比較して体重・体脂肪率に差がないにも関わらず、全身のインスリン感受性が有意に増悪していた。一方、脂肪組織特異的にFam13aを過剰発現するaP2-Fam13a-Tgマウスでは全身のインスリン感受性が亢進していた。次にFam13aによる代謝調節機構を解明するために3T3-L1脂肪細胞を用いて*in vitro*の実験を行った。Fam13aをsiRNAを用いてノックダウンすると3T3-L1脂肪細胞のインスリンシグナルが減弱した。更に、Fam13aノックダウンによるインスリンシグナル減弱はinsulin receptor substrate-1(IRS-1)の減少が原因であることがわかった。IRS-1はセリン・スレオニン残基がリン酸化されるとプロテアソームで分解されることが知られている。Fam13aはIRS-1のプロテ

アソーム分解を抑制することで IRS-1 発現を維持していた。そのメカニズムとして、Fam13a はセリン・スレオニン脱リン酸化酵素である PP2A と結合し、更に coiled-coil domain を介して IRS-1 と結合することで PP2A を IRS-1 にリクルートし、IRS-1 のセリン・スレオニンリン酸化レベルを低下させて、プロテアソーム分解を阻害することを明らかとした。脂肪組織の Fam13a 発現は、肥満に伴う小胞体ストレスや酸化ストレスによって著明に減少することも私たちは見出し、肥満に伴う脂肪組織のインスリン感受性低下には Fam13a の機能低下が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。従って、脂肪組織における Fam13a の活性化は肥満関連代謝異常に対する新しい治療戦略として有望であると考えられた。

<Nrg4>

Nrg4 を欠損した(Nrg4-KO)マウスは野生型マウスと比較して肥満傾向を示し、全身のインスリン感受性が有意に増悪していた。一方、脂肪組織特異的に Nrg4 を過剰発現する aP2-Nrg4-Tg マウスでは、体重は変わらないものの、全身のインスリン感受性が亢進していた。Nrg4-KO マウスでは褐色脂肪・白色脂肪の血管密度が低下しており、褐色脂肪における熱産生が減弱する結果、エネルギー消費が低下して肥満傾向を示すことがわかった。また白色脂肪の血管が減少する結果、肥満時には脂肪の低酸素が増悪して強い炎症が惹起され、より重篤な脂肪機能障害が引き起こされることがわかった。更に、培養細胞を用いた in vitro の実験により、Nrg4 は ErbB4 受容体を介して血管内皮細胞の血管新生能を増強することも明らかとした。以上の結果から、Nrg4 は脂肪細胞が合成・分泌する新規の血管新生誘導性アディポカインであり、脂肪組織の血管密度を維持することで、脂肪組織の恒常性維持に重要な役割を果たすことがわかった。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

- 1 Nugroho DB, Ikeda K*,Kajimoto K, Hirata KI, Emoto N. Activation of neuregulin-4 in adipocytes improves metabolic health by enhanceing adipose tissue angiogenesis. *Biochem Biophys Res Commun.* 504: 427-433, 2018.
- 2 Nugroho DB, Ikeda K*, Barinda AJ, Wardhana DA, Yagi K, Miyata K, Oike Y, Hirata KI, Emoto N. Neuregulin-4 is an angiogenic factor that is critically involved in the maintenance of adipose tissue vasculature. *Biochem Biophys Res Commun.* 503: 378-484, 2018.
- 3 Wardhana DA, Ikeda K*, Barinda AJ, Nugroho DB, Qurania KR, Yagi K, Miyata K, Oike Y, Hirata K, Emoto N. Family with sequence similarity 13, member A modulates adipocyte insulin signaling and preserves systemic metabolic homeostasis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 115: 1529-1534, 2018.

〔学会発表〕(計 6 件)

1. Angiogenic adipokine Neuregulin-4 ameliorates adipocyte dysfunction associated with obesity by regulating adipose tissue angiogenesis.
Nugroho DB, Ikeda K, Barinda AJ, Wardhana DA, Hirata K-I, Emoto N.
American Heart Association Scientific Session. 2016 Nov 12-16; New Orleans, USA

2. Identification and characterization of a novel gene that regulates adipocyte insulin signaling and preserves metabolic homeostasis
Donytra Arby Wardhana, Koji Ikeda, Noriaki Emoto, Ken-ichi Hirata
第81回日本循環器学会総会 2017年3月18日 金沢
3. Signaling cross talk between adipocyte and endothelial cell via neuregulin-4 regulates adipose angiogenesis and metabolic homeostasis
Dhite B. Nugroho, Koji Ikeda, Noriaki Emoto, Ken-ichi Hirata
第81回日本循環器学会総会 2017年3月17日 金沢
4. 血管内皮-成熟脂肪細胞クロストークによる脂肪血管新生制御と脂肪組織恒常性維持機構の解明
池田 宏二
日本内分泌学会学術総会 2016年4月21日 京都
5. Identification and characterization of a novel gene that regulates lipolysis to preserve metabolic homeostasis
Donytra Arby Wardhana, Koji Ikeda, Noriaki Emoto, Ken-ichi Hirata
第80回日本循環器学会総会 2016年3月19日 仙台
6. A novel angiogenic adipokine neuregulin-4 preserves metabolic homeostasis by regulating adipose tissue angiogenesis
Dhite B. Nugroho, Koji Ikeda, Noriaki Emoto, Ken-ichi Hirata
第80回日本循環器学会総会 2016年3月18日 仙台

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。