

令和元年5月17日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09743

研究課題名(和文) 褐色脂肪組織におけるO-GlcNAc修飾によるUCP1発現調節機構の解明

研究課題名(英文) Pivotal Role of O-GlcNAc Modification in Cold-Induced Thermogenesis by Brown Adipose Tissue Through Mitochondrial Biogenesis

研究代表者

卯木 智 (Satoshi, Ugi)

滋賀医科大学・医学部・講師

研究者番号：20378483

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：O-GlcNAc transferase (Ogt)を褐色脂肪組織(BAT)特異的に欠損したマウス(Ogt-BKO)を作製し、表現型を解析した。Ogt-BKOのBATは脂肪滴蓄積し肥大化した。原因はUCP1、PGC-1 およびミトコンドリア関連蛋白の発現低下と考えられた。以上より、BATにおいて、OgtがPGC-1 を介したミトコンドリアの機能調節に関与していると考えられた。また、Ogt-BKOは、絶食状態では寒冷環境で低体温をきたすが、普通食摂取下では低体温をきたさない。しかし、高脂肪食では予防できなかった。このことから、Ogt-BKOのBATでは、糖利用が熱産生に重要と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

褐色脂肪組織はマウスには存在するが成人では存在しないと最近まで考えられていたが、成人においても存在することが明らかになり、大きな注目を浴びている。本研究により、O-GlcNAc修飾が、褐色脂肪において、ミトコンドリアバイオジェネシスを介して熱産生を調節していることが明らかになった。このことから、O-GlcNAc修飾を調節することにより、褐色脂肪細胞を活性化させ、熱産生を増加させることにより、肥満の予防、治療法の開発につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The aim of study was to investigate the critical role of O-linked N-acetylglucosamine (O-GlcNAc) modification in cold-induced thermogenesis. Deletion of Ogt in brown adipose tissue (BAT) resulted in severe cold intolerance with decreased Ucp1 expression. Furthermore, Ogt deletion led to decreased mitochondrial protein expression in conjunction with decreased PGC-1 protein expression, suggesting that O-GlcNAc modification in BAT is responsible for cold-induced thermogenesis. Hypothermia was significant under fasting conditions. This effect was mitigated after normal diet consumption but not after consumption of a ketogenic diet lacking carbohydrates, suggesting impaired diet-induced thermogenesis, particularly by fat. In conclusion, O-GlcNAc modification is essential for cold-induced thermogenesis and mitochondrial biogenesis in BAT. Glucose flux into BAT may be a signal to maintain BAT physiological responses.

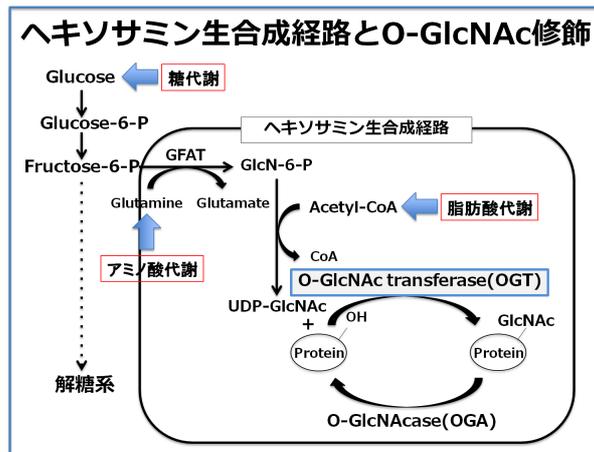
研究分野：糖尿病学

キーワード：O-GlcNAc修飾 褐色脂肪細胞 熱産生 ミトコンドリア 肥満

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

1. 研究開始当初の背景

O-GlcNAc 修飾は、細胞内に流入したブドウ糖の一部がヘキサミン合成経路に流入し産生される UDP-*N*-アセチルグルコサミン(UDP-GlcNAc)を基質とし、転移酵素 O-GlcNAc transferase (OGT)によって蛋白に付加される修飾である。この経路には、ブドウ糖のほかにアミノ酸や脂肪酸代謝産物が流入することから、細胞内の栄養センサーとしての役割を担っている



と考えられている(左図)。この経路が糖尿病をはじめとする代謝異常に関連していることが知られている。我々は、ショウジョウバエにおいて O-GlcNAc 修飾酵素遺伝子をノックダウンすると、インスリン産生量、インスリン感受性とも変化すること(Sekine O, JBC 2010) 膵臓特異的 Ogt 欠損マウスを作成し、β細胞のアポトーシスによりインスリン分泌が低下する現象を見出している (Ida S, Diabetologia

2017)。

脂肪組織では、飢餓、摂食、寒冷などの生体環境に応じて、糖や脂肪酸の流入と放出が活発に行われている。とくに、褐色脂肪は、脂肪酸を分解し熱による「エネルギー産生」という役割を担っており、その細胞分化や機能を活性化することによって、肥満の抑制、糖・脂質代謝改善といった効果を認めることが明らかになりつつある。しかし、脂肪組織における O-GlcNAc 修飾の機能に関してはほとんど解明されていない

2. 研究の目的

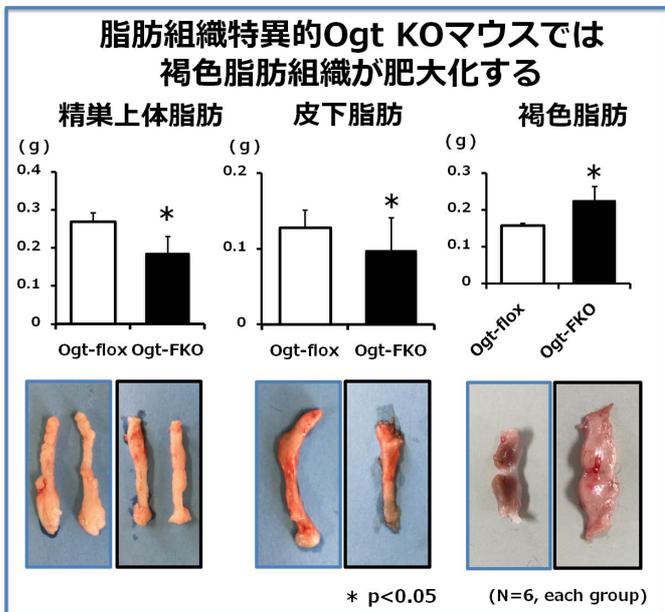
脂肪組織特異的 Ogt 欠損マウスと褐色脂肪組織特異的 Ogt 欠損させたマウスを作成し、脂肪組織における O-GlcNAc 修飾の生理的役割(とくに寒冷環境下での熱産生・エネルギー代謝)を解明する。

3. 研究の方法

- (1) Ogt-flox マウスと Adiponectin-Cre マウス、UCP (uncoupling protein)-1-Cre マウスを交配して、脂肪組織特異的 Ogt ノックアウト(FKO)マウス、および、褐色脂肪組織特異的 Ogt ノックアウト(BKO)マウスを作製した。
- (2) 両 KO において、寒冷環境下での熱産生・エネルギー代謝に関する検討するため、マウスを 16 時間絶食後、4 日の環境にして体温の変化(直腸温)を検討した。
- (3) 脂肪組織において、熱産生に関連する因子(peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1α (PGC-1α)、UPC-1 ミトコンドリア関連蛋白)の発現を検討した。
- (4) FKO において、絶食時と自由摂食時で寒冷刺激を行い、体温の変化を検討した。また、ブドウ糖またはオリーブオイルを経口投与後に、寒冷刺激による体温変化を検討した。
- (5) 4 日の環境下と室温環境下で、腹腔内ブドウ糖負荷試験(IPGTT)を検討した。

4. 研究成果

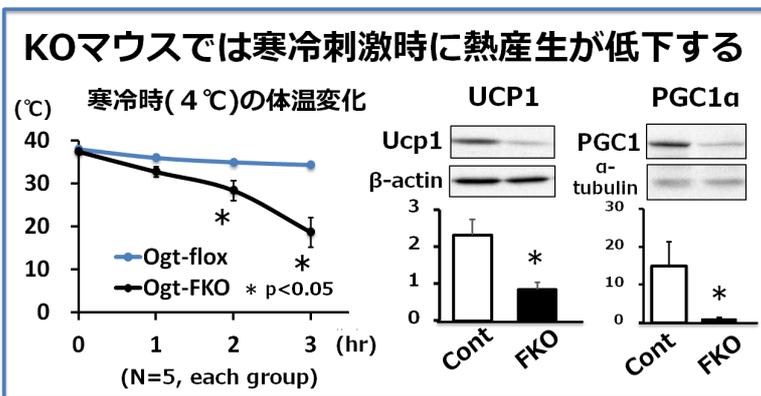
- (1) FKO における検討



通常食飼育において、精巣上体脂肪および皮下脂肪の白色脂肪組織では、FKO マウスにおいて有意な脂肪重量の減少を認めた。対して、褐色脂肪では、著明な肥大化を認めた（図左）。組織学的には脂肪滴の貯留が著明であった。体重と糖代謝には変化がなかった。

(2) 寒冷暴露の検討

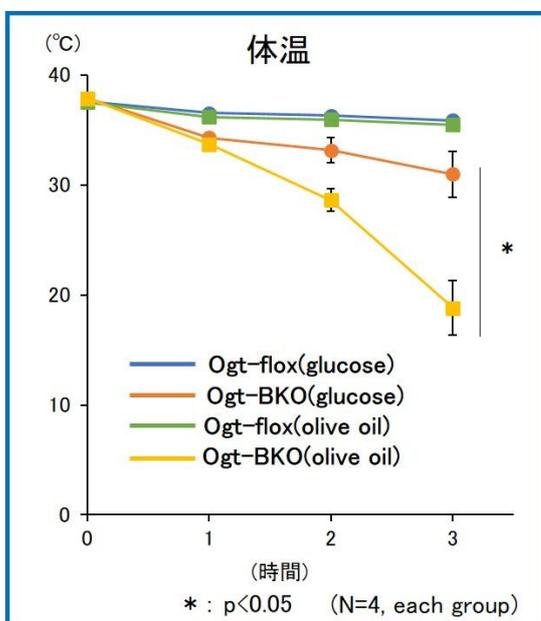
FKO を 16 時間絶食後、4 °C の環境下にすると、FKO では体温が顕著に低下した（図左）。この熱産生低下



下の原因として、褐色脂肪において、UCP1、PGC1-αの発現、ミトコンドリア関連蛋白が著明に低下していることが一因と考えられた（図左）。また、UCP-1 は通常、寒冷刺激によって発現が増強されるが、FKO では寒冷刺激によっても発現誘導が低下していた。

(3) BKO における検討

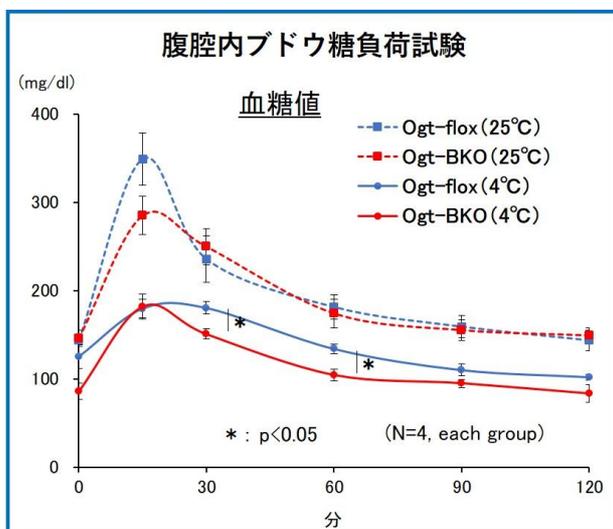
BKO では、白色脂肪組織に変化は見られなかったが、FKO 同様、褐色脂肪組織の肥大化を認めた。また、FKO と同様、PGC-1α 蛋白の発現低下と、それに伴うミトコンドリア関連蛋白や UCP1 の発現低下を認めた。



(4) BKO における食餌内容の差異による寒冷負荷耐性

BKO も FKO と同様、16 時間絶食後に 4 °C の環境下にすると体温が顕著に低下した。しかし、自由摂食下では、体温低下が著明に抑制された。脂質割合が 90% 以上の食餌では体温低下は抑制できなかった。さらには、ブドウ糖投与後は寒冷負荷不耐性が緩和されたが、オリーブオイル負荷後には緩和されなかった（図左）。以上から、BKO では、熱産生の原料として、糖の利用は可能であるが、脂肪酸の利用が障害されている可能性が考えられた。

(5) BKO の寒冷環境における耐糖能



室温環境下では、BKO はコントロールマウスと比較して、IPGTT で血糖上昇に変化はなかったが、寒冷環境下では有意に血糖上昇が抑えられた (図左)。このことから、BKO の褐色脂肪組織では、寒冷環境下では脂肪の利用障害と糖の利用亢進が起こっている可能性が示唆された。

結論

褐色脂肪組織における Ogt の欠損により、PGC-1 の蛋白発現の低下に伴うミ

トコンドリア関連蛋白、UCP1 の発現低下によって、顕著な寒冷負荷不耐性を示す熱産生障害を引き起こした。寒冷環境下における脂肪酸の利用障害と糖の利用亢進が示唆されることから、褐色脂肪における Ogt が、熱産生の原料を脂肪から糖へとシフトさせる細胞内の栄養センサーとしての役割を果たしている可能性が示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Pivotal Role of O-GlcNAc Modification in Cold-Induced Thermogenesis by Brown Adipose Tissue Through Mitochondrial Biogenesis.

Ohashi N, Morino K, Ida S, Sekine O, Lemecha M, Kume S, Park SY, Choi CS, Ugi S, Maegawa H. Diabetes. 2017 66(9):2351-2362. <https://doi.org/10.2337/db16-1427>

〔学会発表〕(計 5 件)

1. 褐色脂肪組織の O-GlcNAc 修飾は寒冷環境における熱産生に重要である

大橋夏子, 森野勝太郎, 井田昌吾, Mengistu Lemecha, 久米真司, 関根理, Park Shi-Young, Soo Choi Cheol, 卯木智, 前川聡 第 36 回日本肥満学会 2017

2. 褐色脂肪組織の O-GlcNAc 修飾は寒冷環境における熱産生に重要である

大橋夏子, 森野勝太郎, 井田昌吾, 関根理, Lemecha Mengistu, 久米真司, Park Shi-Young, Choi Cheol Soo, 卯木智, 前川聡 第 60 回日本糖尿病学会総会 2017

3. 褐色脂肪組織における O-GlcNAc 修飾は体温維持に重要である

大橋夏子, 森野勝太郎, 井田昌吾, 久米真司, 関根理, 卯木智, 前川聡 第 59 回日本糖尿病学会総会 2016 年

4. Metabolic switch by O-GlcNAcylation is essential for cold-induced thermogenesis in

brown adipose tissue. Natsuko Ohashi, Katsutaro Morino, Shogo Ida, Mengistu Lemecha, Shinji Kume, Osamu Sekine, Shi-Young Park, Cheol Soo Choi Satoshi Ugi, Hiroshi Maegawa The Annual meeting of 77th American diabetes association 2017

5. The pivotal role of O-GlcNAcylation in cold-induced thermogenesis by brown adipose tissue. N. Ohashi, K. Morino, S. Ida, O. Sekine, M. Lemecha, S. Kume, S.-Y. Park, C.S. Choi,

〔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。