

令和元年6月4日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09783

研究課題名(和文) 脂肪組織のリモデリングを制御する新規蛋白の同定と病態生理学的意義

研究課題名(英文) Functional roles of proline/arginine-rich end leucine-rich repeat protein (PRELP) in adipocytes

研究代表者

江口 潤 (Eguchi, Jun)

岡山大学・大学病院・講師

研究者番号：60616366

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)：メタボリックシンドロームの治療法の探索のため、PreIpの機能解析を行った。PreIpは結合組織や軟骨に発現し、早老症の原因遺伝子であることが報告されている。肥満したマウスの脂肪組織では、PreIpの発現が著しく亢進していた。さらに、培養脂肪細胞の検討において、PreIpを減少させた脂肪細胞では、インスリン応答性の糖取り込みが亢進していた。また、PreIpを脂肪組織に過剰発現させたマウスでは、脂肪組織の繊維化や全身のインスリン抵抗性が悪化していた。PreIpは、メタボリックシンドロームに合併する種々の疾患の発症に関与していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

メタボリックシンドロームにおいては体内に脂肪組織が過剰に蓄積し、過剰に蓄積した脂肪組織中では、慢性的に炎症が起こっている。この慢性炎症が脂肪組織の繊維化を誘導し、全身のインスリン抵抗性、種々の代謝異常を引き起こす。脂肪組織の繊維化を軽減、もしくは治癒させることは、国民の健康維持、増進に有用である。そのため、脂肪組織の繊維化発症に関わる病態を解明する必要があるが、未だ不明な点が多い。本研究は、PreIpが脂肪組織の繊維化発症に関与している可能性を示した。メタボリックシンドロームの有効な治療薬開発の糸口になる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：PRELP belongs to the family of leucine-rich repeat proteins, which are characterized by a series of adjacent leucine-rich motifs flanked by disulfide-bounded domains. In the present study, we show that PRELP expression is up-regulated in adipocytes of obesity mice. PRELP reduction in 3T3-L1 adipocytes leads to insulin-stimulated glucose uptake. To determine functions of PRELP, we generated adipocyte-specific PRELP transgenic mice. Adipose-specific overexpression of PRELP results in the development of adipose tissue fibrosis and insulin resistance on high fat diet without difference of body weight and adiposity. This phenotype is associated with increased inflammation and decreased insulin signaling in adipose tissue. Furthermore, we find that global PreIp deficient mice are protected from adipose tissue fibrosis and insulin resistance associated with high fat feeding. These data suggest that PRELP might play a key role in the development of adipose tissue remodeling in obesity.

研究分野：糖尿病代謝

キーワード：メタボリックシンドローム

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

メタボリックシンドロームにおいては体内に脂肪組織が過剰に蓄積し、過剰に蓄積した脂肪組織中では、慢性的に炎症が起こっており、肥大した脂肪細胞が MCP-1 に代表されるケモカインの分泌によりマクロファージを脂肪組織に誘導し、誘導されたマクロファージがさらに炎症性のシグナルを産生することで脂肪組織内の炎症を増幅していると考えられている。この慢性炎症が脂肪組織の繊維化(リモデリング)を誘導し、全身のインスリン抵抗性、ひいては種々の代謝異常を引き起こす。脂肪組織の慢性炎症、繊維化を軽減、もしくは治癒させることはメタボリックシンドロームに伴う糖尿病、脂質異常症、高血圧症などの動脈硬化性疾患の原因となる健康障害の治療に効果があり、国民の健康維持、増進に有益であると考えられる。そのためには、脂肪組織の慢性炎症や繊維化発症に関わる遺伝子群や代謝経路を解明し、病態を明らかにする必要があるが、未だ不明な点が多い。

2. 研究の目的

申請者は、脂肪組織のリモデリングの治療標的を探索するため、マウス多能性幹細胞の細胞株である C3H10T1/2 細胞にレンチウイルス shRNA ライブラリーを導入することにより脂肪細胞、筋細胞、軟骨細胞への分化を制御する運命決定因子を同定するスクリーニングを行い、膜蛋白 Prelp (proline/arginine-rich end leucine-rich repeat protein) を同定した。Prelp は脂肪細胞の分化を抑制し、肥満モデルマウスの脂肪組織、特に成熟脂肪細胞で発現上昇していた。Prelp の機能解析を行うことにより、メタボリックシンドロームにおける脂肪組織のリモデリングを制御する上で新しい分子機構を明らかにし、メタボリックシンドロームの新たな創薬ターゲット分子の同定を目指す。

3. 研究の方法

レンチウイルスを用いて過剰発現とノックダウンの系を用い、脂肪細胞における Prelp の糖取り込みに対する影響を検討した。次に、脂肪細胞特異的トランスジェニックマウスと全身性 Prelp 欠損マウスに高脂肪食負荷を行い、全身の糖代謝、インスリン感受性、脂肪組織量、遺伝子発現を解析することにより、Prelp のメタボリックシンドロームにおける病態生理学的意義、治療応用への可能性を検討した。

4. 研究成果

(1) 脂肪細胞における Prelp の発現調節

Prelp は肥満モデルマウスの脂肪細胞で発現上昇している。培養細胞や脂肪組織の ChIP-seq の結果よりデキサメサゾンが発現を増加させ、チアゾリジン誘導体が発現抑制を起こすことが明らかになった。

(2) 培養細胞における機能解析

Prelp を過剰発現させた 3T3-L1 脂肪細胞ではインスリン応答性の糖取り込みと Akt のリン酸化が抑制され、Prelp を発現抑制した脂肪細胞ではインスリン応答性の糖取り込みと Akt のリン酸化が亢進していた。

(3) 脂肪細胞特異的 Prelp トランスジェニックマウスと全身性 Prelp 欠損マウスを用いた機能解析

aP2 プロモーターを用いて脂肪細胞特異的 Prelp トランスジェニックマウスを作成した。高脂肪食負荷した脂肪細胞特異的 Prelp トランスジェニックマウスでは、野生型マウスと比較し、肥満に伴う脂肪組織の繊維化が増強しており、全身のインスリン抵抗性がより強く誘導されていた。一方、高脂肪食負荷した全身性 Prelp 欠損マウスは野生型マウスと比較し、野生型マウスと比較し、肥満に伴う脂肪組織の繊維化が軽減しており、全身のインスリン抵抗性も改善されていた。また、脂肪組織のマイクロアレイを行ったところ、全身性 Prelp 欠損マウスにおいて炎症、繊維化に関連する遺伝子群の発現は低下し、脂肪細胞の機能に関する遺伝子群の発現増加を認めた。

Prelp は、382AA のアミノ酸でコードされ、牛の関節軟骨に強く発現する蛋白として同定された。その構造から Fibromodulin や Lumican などと共に leucine-rich repeat (LRR) protein ファミリーに分類されている。機能の詳細については、明らかになっていないが、基底膜と結合組織の結合に関与するとの報告や、機序は不明だが早老症の発症に関与しているとの報告もある。我々が行った上記の結果より、Prelp は生体内で脂肪組織の繊維化の発症起点となっており、全身のインスリン抵抗性を誘導する。Prelp は、メタボリックシンドロームにおける脂肪組織の繊維化を改善する糸口となる

可能性があり、現在そのメカニズムについて検討中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 8 件)

1. **Eguchi J**, Kazuya Miyashita, Isamu Fukamachi, Katsuyuki Nakajima, Masami Murakami, et al. GPIHBP1 autoantibody syndrome during interferon β treatment. *J Clin Lipidol.* 2019; 13(1): 62-69. 査読有
2. Takagi K, Yoshida R, Yagi T, Umeda Y, Nobuoka D, Kuise T, Hinotsu S, Matsusaki T, Morimatsu H, **Eguchi J**, Wada J, Senda M, Fujiwara T. Effect of an enhanced recovery after surgery protocol in patients undergoing pancreaticoduodenectomy: A randomized controlled trial. *Clin Nutr* 2019; 38(1): 174-181. 査読有
3. Tanaka K, Sugiyama H, Yamanari T, Mise K, Morinaga H, Kitagawa M, Onishi A, Ogawa-Akiyama A, Tanabe K, **Eguchi J**, Ohmoto Y, Shikata K, Wada J. Renal expression of trefoil factor 3 mRNA in association with tubulointerstitial fibrosis in IgA nephropathy. *Nephrology.* 2018; 23(9): 855-862. 査読有
4. Mise K, Imamura M, Yamaguchi S, Teshigawara S, Tone A, Uchida HA, **Eguchi J**, Nakatsuka A, Ogawa D, Yoshida M, Yamada M, Shikata K, Wada J. Identification of Novel Urinary Biomarkers for Predicting Renal Prognosis in Patients With Type 2 Diabetes by Glycan Profiling in a Multicenter Prospective Cohort Study: U-CARE Study 1. *Diabetes Care.* 2018; 41(8): 1765-1775. 査読有
5. Hatanaka T, Ogawa D, Tachibana H, **Eguchi J**, Inoue T, Yamada H, Takei K, Makino H, Wada J. Inhibition of SGLT2 alleviates diabetic nephropathy by suppressing high glucose-induced oxidative stress in type 1 diabetic mice. *Pharmacol Res Perspect.* 2016; 30; 4(4): e00239. 査読有
6. Kumari M, Wang X, Lantier L, Lyubetskaya A, **Eguchi J**, Kang S, Tenen D, Roh HC, Kong X, Kazak L, Ahmad R, Rosen ED. IRF3 promotes adipose inflammation and insulin resistance and represses browning. *J Clin Invest.* 2016; 126(8): 2839-54. 査読有
7. Murakami K, **Eguchi J**, Hida K, Nakatsuka A, Katayama A, Sakurai M, Choshi H, Furutani M, Ogawa D, Takei K, Otsuka F, Wada J. Antiobesity action of ACAM by modulating the dynamics of cell adhesion and actin polymerization in adipocytes. *Diabetes.* 2016; 65(5), 1255-1267. 査読有
8. Nakatsuka A, Matsuyama M, Yamaguchi S, Katayama A, **Eguchi J**, Murakami K, Teshigawara S, Ogawa D, Wada N, Yasunaka T, Ikeda F, Takaki A, Watanabe E, Wada J. Insufficiency of phosphatidylethanolamine N-methyltransferase is risk for lean non-alcoholic steatohepatitis. *Sci Rep.* 2016; 6:21721. 査読有

〔学会発表〕(計 5 件)

1. **Eguchi J**: Functional roles of proline/arginine-rich end leucine-rich repeat protein (PRELP) in adipocytes, 第 78 回米国糖尿病学会, フロリダ (米国), 2018 年
2. 江口 潤: シンポジスト, 脂肪組織のリモデリングの制御因子の同定と機能解析, ConBio 2017, 神戸, 2017 年
3. 江口 潤: シンポジスト, メタボリックシンドロームにおける脂肪組織繊維化の発症分子機構, 第 62 回日本臨床検査医学会中国・四国支部総会, 岡山, 2017 年
4. **Eguchi J**: Functional roles of proline/arginine-rich end leucine-rich repeat protein (PRELP) in adipocytes, Keystone Symposia, デンバー (米国), 2017 年
5. **Eguchi J**: Functional roles of proline/arginine-rich end leucine-rich repeat protein (PRELP) in adipocytes, Keystone Symposia, バンフ (カナダ), 2016 年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

特記事項なし

〔その他〕
特記事項なし

6. 研究組織
研究分担者や研究協力者は無し

※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。