

令和 2 年 7 月 1 日現在

機関番号：33910

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K00892

研究課題名(和文) 糖尿病性栄養障害におけるHDL低下の分子機構

研究課題名(英文) Molecular mechanism of HDL reduction in diabetic malnutrition

研究代表者

呂 銳 (LU, Rui)

中部大学・応用生物学部・講師

研究者番号：80381862

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)：糖尿病管理の栄養学的破綻である高血糖におけるHDL代謝の障害を研究し、以下の成果を得られた。(1) 高濃度グルコースによりABCA1タンパク質分解速度が低下し、細胞表面への局在が減少し、HDL生成の低下を引き起こすことを示した。(2) J774細胞では、AGE-albumin刺激によるABCA1タンパク質の分解を促進する。(3) 亜鉛はカルシウムと同様にカルモジュリンとABCA1の結合を促進し、ABCA1のカルパイン分解を抑制する。この結合の増加がHDL産生を促進させることを示した。(4) ノビレチンがABCA1/ABCG1の転写を促進し、HDL産生促進に繋が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

我々は、ABCA1蛋白質の分解と安定化の詳細な分子機構を研究し、世界のHDL研究拠点の一つとしての研究成果を挙げてきた。ABCA1/ABCG1の発現と活性調節はHDL代謝制御の鍵であり、糖尿病においても脂質代謝異常の改善と動脈硬化進展予防治療の重要な標的である。これらの成果は、HDL代謝の栄養学的制御、とりわけ糖尿病におけるその分子機構の解明につながり、ABCA1分解を標的としたHDL代謝改善/糖尿病動脈硬化進展予防/治療に新たな道を開くことができる。

研究成果の概要(英文)：To study atherosclerosis risk in diabetes, we investigated ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) expression and high-density lipoprotein (HDL) biogenesis in the liver and hepatocytes under hyperglycemic conditions. The following results were obtained. (1) The decrease of surface ABCA1 but increase of intracellular ABCA1 with high d-glucose in HepG2 cells. Clearance of ABCA1 was retarded both in primary hepatocytes and HepG2 cells exposed to high d-glucose. (2) AGE-albumin reduced ABCA1 in J774 and THP-1 macrophages (20-30%) and induced a higher ABCA1 ubiquitination and a faster protein decay rate that was dependent on the presence of AGE during the kinetics of measurement in the presence of cycloheximide. (3) Zn²⁺ increased ABCA1 expression, not by increasing the mRNA but by attenuating its decay rate, more prominently in the presence of cAMP. (4) Nobiletin promotes the transcription of ABCA1/ABCG1, leading to the promotion of HDL production.

研究分野：生化学、分子生物学、

キーワード：HDL ABCA1

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

HDLの産生には細胞膜にあるABC蛋白質ABCA1が必須であり、その存在下で細胞のリン脂質およびコレステロールは細胞外のアポリポ蛋白質apoA-1などと結合して HDLを形成、細胞コレステロール搬出の主要な反応の一つとなる。その遺伝子変異による活性消失は血漿HDLの消失 (Tangier病など)を招き、この反応がHDLの殆ど唯一の産生源であることが分かる。またABCG1は、生成したHDL粒子への細胞コレステロールの流失を促進するとされる。糖尿病では、これらを含め重要なHDL 関連分子(hSR-BI/CLA-1、ABCA1、apoA-1)の機能低下とHDL代謝異常が指摘されている。また、糖尿病患者やそのモデルマウスのマクロファージにおけるABCG1の 発現低下とHDLによるコレステロール搬出の減弱も報告されている。従って、ABCA1/ABCG1の発現と活性調節はHDL代謝制御の鍵であり、糖尿病においても脂質代謝異常の改善と動脈硬化進展予防治療の重要な標的である。

2. 研究の目的

糖尿病における動脈硬化症増加の分子機構を解明するため、糖尿病管理の栄養学的破綻である高血糖における HDL 代謝の障害、糖尿病の栄養学的管理の破綻である高血糖が代表的合併症である動脈硬化発症に関与する分子機構を、低HDL血症発症の面から解明する。これにより、糖尿病における動脈硬化発症進展の予防治療の技術開発に役立て、栄養学的管理の重要性を明らかにする。

3. 研究の方法

マウスマクロファージ細胞株細胞 J774.1、マウス腹腔マクロファージ細胞及びヒト株化肝細胞 HepG2 を用いた。HDL 産生に関連する遺伝子の発現を Real time PCRと Western Blot 法により検討した。また蛍光標識したコレステロールを用い細胞のコレステロール排出能を測定した。

4. 研究成果

(1) 高濃度グルコースにより ABCA1 タンパク質分解速度が低下し、ヒト株化肝細胞 HepG2 において、高濃度グルコースの条件下で細胞 ABCA1 タンパク質総量は増加するが、細胞表面への局在が低下し、HDL 生合成の低下を引き起こすことを示した。(図1)

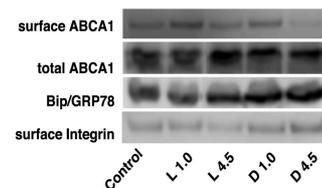


図 1、HEPG2 細胞における、高濃度グルコース (D 4.5 g/L) による細胞表面 (biotin 標識) ABCA1 の減少。細胞 ABCA1 全量 (total) は増加している。

(2) J774 細胞では、AGE-albumin 刺激による ABCA1 タンパク質の分解を促進する。AGE-アルブミンは、プロテアソームおよびリソソーム系を介して ABCA1 の分解を加速することにより、ABCA1 を減少させる。これは、糖尿病におけるアテローム性動脈硬化症に寄与する RAGE シグナル伝達を介してコレステロール流出を減少させることにより、マクロファージにおける脂質蓄積を増加させる可能性が示唆された(図2)。

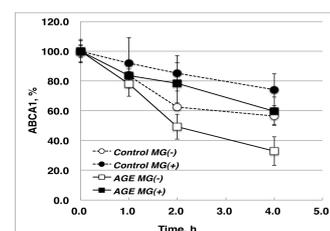


図2、AGEによる ABCA1 の proteasome 分解の促進。J774 細胞の AGE-albumin 刺激による分解速度の昂進と MG-132 による回復。

(3) 柑橘類の果皮に含まれる機能性成分であるノビレチン(NOB)は、糖尿病、肥満、動脈硬化の発症に対して作用すると報告されていますが、その分子メカニズムはほとんど解明されていません。私たちは、柑橘類の果皮に含まれる機能性成分であるノビレチンはABCA1/ABCG1のmRNA及びタンパク質を有意に増加させ、これらの増加はPPAR γ とLXR α のアンタゴニストによって有意に抑制されたことを示した。

(4) Zn⁺⁺はcAMPの存在下でABCA1の分解速度を顕著に低下させることによりABCA1タンパク質を増加させた。従って、細胞外apoA1誘導下の細胞内コレステロールの排出を亜鉛により増加することが認められた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Iborra Rodrigo Tallada, Machado-Lima Adriana, Okuda Ligia Shimabukuro, Pinto Paula Ramos, Nakandakare Edna Regina, Machado Ubiratan Fabres, Correa-Giannella Maria Lucia, Pickford Russell, Woods Tom, Brimble Margaret A., Rye Kerry-Anne, Lu Rui, Yokoyama Shinji, Passarelli Marisa	4. 巻 32
2. 論文標題 AGE-albumin enhances ABCA1 degradation by ubiquitin-proteasome and lysosomal pathways in macrophages	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Diabetes and its Complications	6. 最初と最後の頁 1~10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdiacomp.2017.09.012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsujita Maki, Hossain Mohammad Anwar, Lu Rui, Tsuboi Tomoe, Okumura-Noji Kuniko, Yokoyama Shinji	4. 巻 24
2. 論文標題 Exposure to High Glucose Concentration Decreases Cell Surface ABCA1 and HDL Biogenesis in Hepatocytes	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Atherosclerosis and Thrombosis	6. 最初と最後の頁 1132~1149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5551/jat.39156	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsuboi Tomoe, Lu Rui, Yonezawa Takayuki, Watanabe Akio, Woo Je-Tae, Abe-Dohmae Sumiko, Yokoyama Shinji	4. 巻 297
2. 論文標題 Molecular mechanism for nobiletin to enhance ABCA1/G1 expression in mouse macrophages	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Atherosclerosis	6. 最初と最後の頁 32~39
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.atherosclerosis.2020.01.024	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Tsujita M, Hossain MA, Lu R, Tsuboi T, Okumura-Noji K, Yokoyama S.
2. 発表標題 Exposure to High Glucose Concentration Decreases Cell Surface ABCA1 and HDL Biogenesis in Hepatocytes
3. 学会等名 第49回 日本動脈硬化学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 M. Tsujita, Lu, R Tsuboi, Okumura-Noji, Hossain, Yokoyama
2. 発表標題 High D-glucose level reduced distribution of ABCA1 on plasma membrane and reduced HDL assembly in liver cells.
3. 学会等名 7th FEBS Special Meeting on ABC Proteins (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 呂 銳, 石河 貴大, 横山 信治
2. 発表標題 亜鉛によりABCA1発現・活性への制御機序
3. 学会等名 第51回日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坪井知恵、呂銳、米澤貴之、渡辺章夫、禹濟泰、堂前純子、横山信治
2. 発表標題 柑橘類果皮由来機能性成分ノピレチンによるABCA1、ABCG1活性制御
3. 学会等名 第51回日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Rui Lu, Takahiro Ishikawa, and Shinji Yokoyama
2. 発表標題 Zinc ion regulates ABCA1 by modulating calmodulin activity
3. 学会等名 International Atherosclerosis Society: HDL workshop (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tomoe Tsuboi、Rui Lu、Takayuki Yonezawa、Akio Watanabe、Je-Tae Woo、Sumiko Dohmae、Shinji Yokoyama
2. 発表標題 Molecular mechanism for a functional ingredient in citrus peel nobiletin to enhance production of HDL
3. 学会等名 International Atherosclerosis Society: HDL workshop (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	横山 信治 (YOKOYAMA Shinji) (10142192)	中部大学・生物機能開発研究所・客員教授 (33910)	