

令和 2 年 6 月 16 日現在

機関番号：84305

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09827

研究課題名(和文)モデル動物を用いた糖・脂質代謝調節における異所性脂肪蓄積の病態生理的意義の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the pathophysiological role for ectopic fat accumulation in the regulation of glucose and lipid metabolism

研究代表者

日下部 徹 (Kusakabe, Toru)

独立行政法人国立病院機構(京都医療センター臨床研究センター)・内分泌代謝高血圧研究部・研究室長

研究者番号：60452356

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)：肝臓や骨格筋、膵臓における脂質蓄積は、生体の糖・脂質代謝調節に深く影響することが報告されているが、その詳細なメカニズムには不明な点が多い。本研究により、全身性脂肪萎縮症モデルラット(セイピン欠損ラット)、肥満症モデルラット(レプチン欠損ラット)が、異所性脂肪蓄積のモデル動物として妥当であることが示された。さらに、これらラットを用いて、ニコチンが肝臓における脂質蓄積を非アルコール性脂肪肝炎へ進展させるメカニズムを示した。また、これらラットでは骨格筋量の減少、筋力の低下(サルコペニア)が認められ、今後、異所性脂肪蓄積によるサルコペニアの発症・進展メカニズムが解明される可能性が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで、異所性脂肪蓄積のモデル動物として、高脂肪食摂取による食餌性肥満動物が用いられることが多かったが、肝臓や骨格筋、膵臓などの臓器に脂肪蓄積をきたすのに時間がかかる点や、餌として用いる高脂肪食(45%～60%)が実際の臨床とはかけ離れている点などが問題とされ、異所性脂肪蓄積を検討するための良いモデル動物が存在するとは言えなかった。本研究により、ヒト肥満症の病態により則した異所性脂肪蓄積モデル動物が開発されたことで、今後、肥満症におけるサルコペニアの発症・進展機序など、肥満症の病態解明がさらに進展することが期待され、学術的にも社会的にも意義がある。

研究成果の概要(英文)：It has been reported that lipid accumulation in the liver, skeletal muscle, and pancreas has a profound effect on the regulation of glucose and lipid metabolism in the body, but the mechanisms in detail remain to be unknown. In this study, disease model rats for generalized lipodystrophy and obesity, seipin knockout rat and leptin knockout rat, respectively, were shown to be valid as a model for ectopic fat accumulation. Furthermore, we showed the mechanism by which nicotine promotes fatty liver to non-alcoholic steatohepatitis (NASH) using these rats. In addition, sarcopenia, that is a decrease in skeletal muscle mass and muscle strength, was observed in both rats. The mechanism of onset and progression of sarcopenia due to ectopic fat accumulation in the skeletal muscle will be elucidated in the future.

研究分野：内分泌代謝

キーワード：異所性脂肪蓄積 肥満症 脂肪萎縮症 脂肪肝 2型糖尿病 サルコペニア

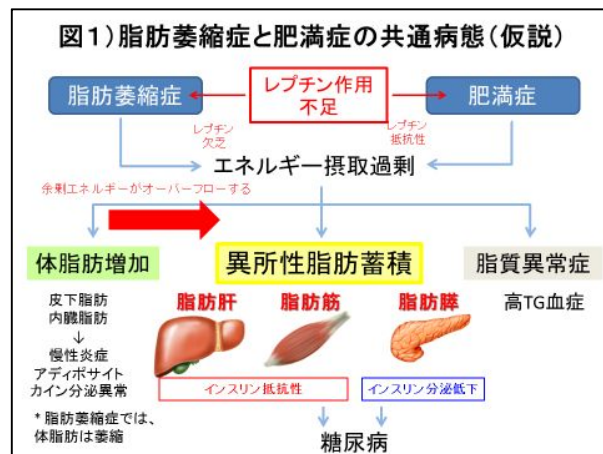
様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、欧米諸国だけではなく我が国においても肥満に基づく糖尿病が急増している。肥満は、脂肪肝や脂肪筋など脂肪組織以外の臓器への脂質蓄積、すなわち「異所性脂肪」を増加させ、これらは糖・脂質代謝調節に深く影響すると考えられている。実際、肝臓や骨格筋における脂質蓄積がインスリン抵抗性を惹起することが、実験動物だけではなくヒトにおいても報告され、その分子メカニズムも明らかにされつつある (*Trends Endocrinol Metab* 14:398-403, 2003)。最近、膵臓における脂質蓄積(脂肪膵)がインスリン分泌能に影響する可能性が報告されている (*Cell Metab* 18:162-185, 2013)。しかしながら、膵臓のどの細胞の脂質蓄積がインスリン分泌に関与するのか、その分子メカニズムなど、未だ不明な点が多い。

これまでに申請者らは、肥満症の病態生理を理解するために、脂肪組織量という点では全く対極に位置する脂肪萎縮症という疾患に着目してきた。脂肪萎縮症は、高度肥満症と同様に著しいインスリン抵抗性、糖尿病、脂質異常症、脂肪肝などの糖・脂質代謝異常を高率に合併する(図1)。申請者らは、肥満症と脂肪萎縮症の診療経験に基づき、その病態比較から、糖・脂質代謝調節における異所性脂肪蓄積の重要性を指摘してきた。最近、肥満症の脂肪組織における慢性炎症が、脂肪組織の線維化を誘導し、その脂質蓄積能を低下させることが報告された (*Nat Commun* 5:4982-4994, 2014)。その結果、肥満症においても脂肪萎縮症と同様に余剰エネルギーが脂肪組織よりオーバーフローして異所性脂肪蓄積が増加すると考えられる。

肥満症と脂肪萎縮症は、ともに脂肪細胞由来ホルモンであるレプチンの作用不足状態、すなわち肥満症ではレプチン抵抗性、脂肪萎縮症ではレプチン欠乏状態にあると考えられる(図1)。申請者らは、脂肪萎縮症患者を対象としてレプチン補充治療を行い、レプチンが脂肪萎縮症に合併する糖・脂質代謝異常、脂肪肝を著明に改善することをヒトにおいて報告した (Ebihara K, Kusakabe T, et al. *J Clin Endocrinol Metab*



92:532-541, 2007)。さらに、医師主導治験、高度医療(第3項先進医療)を経て、2013年3月に、ヒト脂肪萎縮症に対するレプチン治療の薬事承認を得た (Kusakabe T, et al. 18th Adiposience Symposium 2013)。米国の研究グループからも、脂肪萎縮症患者に対するレプチン治療過程で、肝臓、骨格筋における異所性脂肪蓄積が減少し、インスリン抵抗性が改善することが報告されている (*Diabetes Care* 26:30-35, 2003)。

申請者らは、特に糖尿病罹病期間が短い後天性全身性脂肪萎縮症症例においては、レプチン治療過程においてインスリン分泌能が回復することも報告した (*J Clin Endocrinol Metab* 92:532-541, 2007)。未だ詳細なメカニズムは明らかにされていないが、レプチン治療により膵臓内脂質蓄積減少がインスリン分泌能回復に寄与した可能性がある。さらに申請者らは、肥満2型糖尿病モデルマウスを用いた検討により、膵臓内脂質蓄積の増加がGSISの減弱やGLP-1アゴニストによるGSIS促進作用の減弱に関与すること、さらに摂餌制限やレプチン治療による膵臓内脂質蓄積の減少により、GLP-1アゴニストによるGSIS促進作用が回復すること(インクレチン反応性の回復)も報告している (Sakai T, Kusakabe T, et al. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 307:712-719, 2014)。

現在のところ、糖・脂質代謝調節における異所性脂肪蓄積を検討するための良いモデル動物が存在するとは言えない。高脂肪食による食餌性肥満動物が用いられることがあるが、肝臓や骨格

筋に異所性脂肪蓄積をきたすのに時間がかかる点や、餌として用いる高脂肪食（45%～60%）が実際の臨床とはかけ離れている点などの問題がある。ヒト肥満症の病態に則した異所性脂肪蓄積モデル動物が開発され、異所性脂肪蓄積の病態生理的意義が明らかにされることが望まれる。

2．研究の目的

本研究では、異所性脂肪蓄積モデル動物を確立し、それらを用いて糖・脂質代謝調節における異所性脂肪蓄積の病態生理的意義を明らかにする。さらに異所性脂肪蓄積と糖・脂質代謝異常を結ぶ鍵分子が明らかになれば、新たな創薬ターゲットとなる可能性があるため、さらなる検討を進める。

3．研究の方法

（1）異所性脂肪蓄積モデル動物の確立

食餌性肥満ラットをゴールドスタンダードとして、全身性脂肪萎縮症モデルラット（セイピン欠損ラット）〔*Hum Mol Genet* 24: 4238-4249, 2015〕、肥満症ラット（レプチン欠損ラット）〔*Physiol Genomics* 45:786-793, 2013〕における異所性脂肪蓄積および糖・脂質代謝パラメータの関連などを検討して、異所性脂肪蓄積モデル動物としての妥当性を評価する。マウスではなくラットを用いることで、組織・細胞における脂質蓄積は観察しやすくなることが予想され、脂質蓄積を組織学的にも詳細に検討する。

（2）糖・脂質代謝調節における異所性脂肪蓄積の病態生理的意義の解明

異所性脂肪蓄積モデルラットを用いて、肝臓、骨格筋におけるインスリンシグナル、膵臓におけるインスリン分泌能を、個体レベル、細胞レベルで評価する。また摂餌制限、レプチン治療、ニコチン投与などによる介入を行い、異所性脂肪蓄積および糖・脂質代謝パラメータに及ぼす影響を検討する。また異所性脂肪蓄積に関わる鍵分子を明らかにすることで、新規創薬ターゲットを見出す。

4．研究成果

（1）食餌性肥満ラットをゴールドスタンダードとして、全身性脂肪萎縮症モデルラット（セイピン欠損ラット）、肥満症ラット（レプチン欠損ラット）における異所性脂肪蓄積および糖・脂質代謝パラメータの関連などを検討した。セイピン欠損ラット、レプチン欠損ラットでは、肝臓、骨格筋におけるTG含量の増加が観察され、両ラットともに著しいインスリン抵抗性を示した。以上のことから、セイピン欠損ラット、レプチン欠損ラットは異所性脂肪蓄積モデル動物として妥当であると考えられた。

（2）喫煙は、脳心血管イベントの独立したリスク因子であるだけでなく、種々の代謝異常の増悪因子と考えられている。異所性脂肪蓄積モデルであるセイピン欠損ラットに、ニコチンを持続皮下投与したところ、摂食量、体重増加は起こさないものの、随時血糖値、随時インスリン値、総コレステロール値、中性脂肪値を上昇させた。さらに、肝臓脂質含量の増加とともに肝臓が腫大し、肝中心静脈周囲の線維化が促進、炎症マーカー（IL6、TNF α ）、線維化マーカー（Col1A1）の遺伝子発現の上昇が認められた。以上のことから、ニコチン（喫煙）は脂肪肝を非アルコール性脂肪肝炎へ進展させる可能性があると考えられた。

（3）異所性脂肪蓄積に関わる可能性がある因子として、Angiopoietin-like protein (ANGPTL) 8に着目した。ANGPTL8は、強力な膵臓 β 細胞増殖作用を有することが報告され、ベータトロフィンとも呼ばれた（*Cell* 153:747-758, 2013）。我々は、世界で初めてANGPTL8ノック

アウトラットを開発し、その解析を通じて ANGPTL8 はリポプロテインリパーゼ活性を負に制御することで、心筋、骨格筋における脂肪酸 β 酸化、血中中性脂肪 TG 濃度の調整に關与することを明らかにした (Izumi R, Kusakabe T, et al. *J Lipid Res* 59:1575-1585, 2018)。

(4) 異所性脂肪蓄積モデルであるセイピン欠損ラット、レプチン欠損ラットの筋肉量、筋力について検討した。セイピン欠損ラット、レプチン欠損ラットのいずれにおいても、筋肉内の脂質蓄積は増加している一方で、筋肉量および筋力の低下が觀察された。このことは、肥満症などにおける骨格筋脂質蓄積の増加がサルコペニアの発症・進展に寄与する可能性を示唆している。さらに我々は、レプチン受容体遺伝子変異による遺伝性肥満マウス (*db/db* マウス) においても骨格筋脂質蓄積増加とともに骨格筋量減少を確認した。この骨格筋量減少は、低炭水化物食摂取あるいは SGLT2 (sodium glucose cotransporter 2) 阻害剤により改善することが示された (現在、論文投稿中)。骨格筋はマイオスタチンなどの多くの生理活性物質 (マイオカイン) を分泌し全身の代謝調節に關与することが報告されている。これらマイオカインは、骨格筋量の調整にも關与することが想定されている。現在、セイピン欠損ラットおよびレプチン欠損ラットの骨格筋における脂質蓄積がマイオカイン分泌を介して骨格筋量調節に關与するという仮説のもと、肥満症におけるサルコペニアの発症・進展メカニズムを検討中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 1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 日下部 徹	4. 巻 8
2. 論文標題 肥満、糖尿病に合併するサルコペニア	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BIO Clinica	6. 最初と最後の頁 78-82
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 日下部徹、海老原健、中尾一和	4. 巻 30
2. 論文標題 AGPAT2遺伝子変異による先天性全身性脂肪萎縮症の臨床的特徴	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Lipid	6. 最初と最後の頁 98-102
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 Izumi R, Kusakabe T, Noguchi M, Iwakura H, Tanaka T, Miyazawa T, Aotani D, Hosoda K, Kangawa K, Nakao K.	4. 巻 59
2. 論文標題 CRISPR/Cas9-mediated Angptl8 knockout suppresses plasma triglyceride concentrations and adiposity in rats.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Lipid Res.	6. 最初と最後の頁 1575-1585
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1194/jlr.M082099.	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12件（うち招待講演 4件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 日下部徹、横田繁史、清水美佳、井上隆之、田中将志、北野隆司、山陰一、浅原哲子
2. 発表標題 肥満糖尿病モデル動物において低炭水化物食とSGLT2阻害薬が体組成および糖脂質代謝に及ぼす影響
3. 学会等名 第40回日本肥満学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 日下部徹、浅原哲子
2. 発表標題 女性の肥満と痩せにおけるサルコペニアの実態
3. 学会等名 第40回日本肥満学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 日下部徹、浅原哲子
2. 発表標題 国立病院機構ネットワーク共同研究による2型糖尿病とサルコペニア
3. 学会等名 第74回日本体力医学会大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 日下部徹、井上隆之、田中将志、山陰一、浅原哲子
2. 発表標題 肥満症や2型糖尿病治療における低炭水化物食とSGLT2阻害薬の有用性の相違
3. 学会等名 第21回応用薬理シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 日下部徹
2. 発表標題 これからの糖尿病治療戦略について
3. 学会等名 近畿国立病院薬剤師会学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 日下部徹、浅原哲子
2. 発表標題 肥満症・糖尿病におけるサルコペニア進展機序の解明
3. 学会等名 第39回日本肥満学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 日下部徹、青谷大介、阿部恵、富田努、海老原健、中尾一和
2. 発表標題 AGPAT2遺伝子変異による先天性全身性脂肪萎縮症の臨床的特徴
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 日下部徹、泉諒太、野口倫生、岩倉浩、田中智洋、青谷大介、細田公則、寒川賢治、中尾一和
2. 発表標題 ANGPTL8は肥満に合併する高中性脂肪血症発症に関与する可能性がある
3. 学会等名 第91回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 日下部徹、山陰一、村中和哉、小谷和彦、山田努、荒木里香、岡嶋泰一郎、大石まり子、島津章、浅原哲子
2. 発表標題 肥満症患者における心血管疾患発症リスク因子としての高尿酸血症 多施設共同前向き研究
3. 学会等名 第38回日本肥満学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 日下部徹、横田繁史、田中将志、増田慎也、井上隆之、北野隆司、山陰一、村中和哉、石井好二郎、真田樹義、浅原哲子
2. 発表標題 サルコペニア肥満の効果的診断法の開発
3. 学会等名 第36回日本臨床運動療法学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 日下部徹、山陰一、小谷和彦、山田努、荒木里香、岡嶋泰一郎、大石まり子、島津章、浅原哲子
2. 発表標題 肥満症患者における心血管疾患発症リスク因子としての高尿酸血症 多施設共同前向き肥満症コホート
3. 学会等名 第60回日本糖尿病学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 日下部徹、泉諒太、野口倫生、宮澤崇、田中智洋、寒川賢治、中尾一和
2. 発表標題 メタボリックシンドローム症例におけるANGPTL8/Betatrophinの組織別遺伝子発現の検討
3. 学会等名 第90回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2017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
---------	---------------------------	-----------------------	----