

令和 2 年 6 月 10 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11041

研究課題名(和文) 骨代謝調節因子による肥満・エネルギー代謝調節の制御とその病態生理学的意義

研究課題名(英文) Control of obesity and energy metabolism by regulator of bone metabolism, and its physiological and pathological role.

研究代表者

日野 純 (Hino, Jun)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・室長

研究者番号：40260351

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)：最近、Bone morphogenetic protein-3b (BMP-3b) が、骨代謝と肥満・エネルギー代謝の両方を制御する新たな因子であることを報告した。一方、C型ナトリウム利尿ペプチド(CNP)は、骨組織に存在する骨代謝調節因子(骨伸長因子)の一つである。本課題では、骨代謝調節因子CNPも、肥満・糖尿病改善やエネルギー消費亢進作用を示すことを、2種類のCNP過剰発現マウス(A-CNP, E-CNP)を用いて明らかにした。これは、骨代謝調節因子BMP-3bと共通した作用であり、骨組織を中心とする新たな臓器関連代謝調節ネットワークシステムの実証に繋がった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CNPの肥満・エネルギー代謝調節については不明であり、さらに、脂肪組織や血管由来のCNPに着目したこれら作用についても新たな知見となる。CNPとBMP-3bは、共に骨代謝調節因子としての役割が知られているが、骨代謝のみならず肥満・エネルギー代謝においても、両者の関連性や相互作用についての報告はなく、本研究の学術的な大きな特色の一つである。更に、本成果を基盤とした臨床応用研究により、肥満病態解明、治療薬開発へも繋がる。実際、ヒトの肥満では、CNPやBMP-3bの発現量変動も報告されていることから、その実現性は高く、社会的意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：Recently, we have reported that bone morphogenetic protein-3b (BMP-3b) acts as regulator of both bone metabolism and obesity/energy metabolism. While, C-type natriuretic peptide (CNP) is present in bone tissues and one of the regulators of bone metabolism (bone elongation factor). Considering the characters of BMP-3b and CNP, we predicted that CNP might be regulator of obesity/obesity and energy metabolism. In this research, we showed that CNP also possessed beneficial effects against obesity/diabetes accompanying increased energy expenditure using two types of CNP transgenic mice (A-CNP and E-CNP). A-CNP is a transgenic mice (Tg) that overexpress CNP in adipocytes, and E-CNP is a Tg that overexpress CNP in endothelial cells. These results indicated that both regulators for bone metabolism also have common beneficial effects in obesity/diabetes, which enable to clarify and demonstrate the role and mechanism of inter-organ communication based on bone tissues.

研究分野：心血管代謝内分泌学

キーワード：肥満・糖尿病 CNP 血管内皮細胞 脂肪細胞 エネルギー代謝 骨代謝 臓器関連 BMP

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

骨組織は、骨代謝調節因子によりその恒常性が厳密に制御されている。一方、エネルギー代謝では、最近、骨組織由来骨代謝調節因子であるオステオカルシンや Bone morphogenetic protein (BMP)-4, 7, 8b による新しい制御システムが報告されている(文献 1,2)。逆に、脂肪組織から分泌されエネルギー代謝調節因子として知られるレプチンが、骨代謝調節作用を有することも知られている(文献 3)。そこで、私たちは、このような骨組織を中心とした他臓器間によるエネルギー代謝ネットワークに着目し、骨代謝調節因子による肥満・エネルギー代謝調節制御に関する研究を開始した。まず、私達が骨組織より発見した Bone morphogenetic protein-3b (BMP-3b)について検討した。BMP-3b は骨芽細胞分化抑制作用を有する因子であるが(文献 4)、最近、新たに脂肪細胞分化抑制作用や抗肥満・エネルギー消費亢進作用を見出し、骨代謝調節因子によるエネルギー代謝調節作用を示す一例を証明した(主な論文発表等の項)。更に、より多角的な解析・検討に向け、次の標的物質として、骨伸長促進因子として知られる C 型ナトリウム利尿ペプチド(CNP)(文献 5)に焦点を当てた検討も開始した。CNP は、生理活性ペプチドであるが(文献 6)、肥満・エネルギー代謝調節における作用は不明である。これまでの検討にて、肥満マウスにおいて CNP の発現量が増加することや肥満・エネルギー代謝において中心的な役割を果たす脂肪組織には、CNP 受容体(GC-B)が豊富に存在することを明らかにしたことから、CNP の肥満・エネルギー代謝制御における重要な役割が予想される。

### 2. 研究の目的

私達は、骨組織から骨芽細胞分化抑制因子として BMP-3b を発見したが、最近、新規作用として脂肪細胞分化抑制作用や抗肥満・エネルギー消費亢進作用を明らかにした。これは、BMP-3b が骨代謝と肥満・エネルギー代謝の両方を制御する新たな因子であることを示す。一方、CNP は、骨組織に存在する骨伸長促進因子である。私達は、CNP の受容体が脂肪細胞に豊富に存在することを見出し、CNP が BMP-3b と同様に、脂肪細胞で作用し肥満やエネルギー代謝に作用していることを予想し、骨代謝調節因子 CNP の肥満・エネルギー代謝調節作用における機能解析を開始した。すなわち、本研究では、骨代謝調節因子による肥満・エネルギー代謝調節作用の解明を目的とする。

### 3. 研究の方法

(1) 培養脂肪細胞における CNP 応答性の検討。

(2) CNP 脂肪細胞特異的(adiponectin promoter, A-CNP)及び血管内皮細胞特異的(tie2 promoter, E-CNP)過剰発現マウスを用い、高脂肪食性肥満・糖尿病モデルにおける作用の検討。

### 4. 研究成果

(1) 培養脂肪細胞に対する作用

3T3-L1 およびマウス脂肪組織由来脂肪細胞に、CNP を投与すると、濃度依存的な細胞内 cGMP 増加および VASP (Vasodilator-stimulated Phosphoprotein (VASP)のリン酸化が検出され、脂肪細胞は CNP の標的細胞の一つとして機能していることが判明した。

(2) 脂肪組織における作用 < 脂肪細胞肥大化及び脂質代謝系への関与 >

A-CNP, E-CNP 共に、野生型と比較して、肥満に伴う脂肪細胞肥大化が抑制され、腸間膜脂肪重量が減少していたが、体重に変動はなかった。脂肪細胞肥大化に関わる脂質代謝系に対する作用を調べると、A-CNP では、脂肪酸合成系因子の発現が抑制されているのに対し、E-CNP では、脂肪酸分解系因子の発現が亢進されており、両者、脂肪細胞肥大化抑制作用を示すものの、その作用メカニズムの違いが示唆された。

(3) エネルギー消費に対する作用とそのメカニズム

A-CNP, E-CNP 共に、野生型と比較して、エネルギー消費量(V02)が増加していた。その要

因解明のため、活動量や体温変化を調べたが、共に変動はなかった。そこで、最近エネルギー消費作用が注目されている褐色脂肪組織や白色脂肪組織のベージュ化(褐色化)での可能性を予想し検討を行った。興味深いことに、A-CNP では、白色脂肪組織(皮下脂肪)のベージュ化(UCP1の増加)、E-CNP では、褐色脂肪組織の活性化(UCP1の増加)という、それぞれ異なるメカニズムでエネルギー消費増加作用を示すことが判明した。両者の作用機序の違い等について、現在、その詳細については解析を実施しているところであるが、褐色脂肪組織が白色脂肪組織と比較して血管豊富な組織であり、組織中における血管内皮細胞の寄与率が反映されていると考察している。

#### (4) 耐糖能に対する作用

A-CNP, E-CNP に対し、糖負荷試験、インスリン抵抗性試験を実施したところ、血糖値が低く、肥満・糖尿病における耐糖能、インスリン抵抗性の改善効果を示した。また、インスリンシグナリング経路の評価として、Akt リン酸化を調べると、A-CNP では、腸間膜脂肪で、E-CNP は、肝臓で活性化していることが判った。活性化している組織の違いについては、組織中の CNP の発現量に依存していることが推察される。すなわち、A-CNP では、脂肪組織で多く肝臓では少ない、一方、E-CNP は血管内皮細胞で高発現しているため、脂肪組織よりも、むしろ血管の豊富な肝臓で多く発現しているからである。

#### (5) 炎症に対する作用

肥満病態では、脂肪組織の炎症が起点となり、全身性の慢性炎症が生じている。A-CNP, E-CNP は共に、肥大化抑制作用(項目1)が認められた腸間膜脂肪において、浸潤するマクロファージの量や炎症性マーカーが減少しており、抗炎症作用を呈していた。血中の炎症マーカー量を調べると、A-CNP では、IL-6のみが減少しているのに対し、E-CNP では TNF- $\alpha$  や MCP-1 も含む複数の因子が減少しており、全身性の抗炎症作用を示した。

#### (6) 肝臓に対する作用

エネルギー代謝(特に肥満においては脂質代謝)の中心的組織となる肝臓における作用を検討した。肝臓は、血管が豊富な組織であることから、まず、E-CNP での表現型を調べると、肝臓重量が減少し、肥満に起因する脂肪肝が抑制(脂肪蓄積量減少)されていた。脂質代謝系への作用を調べると、脂肪酸合成系の抑制と分解系の亢進と両者による作用が判った。更に、肝臓炎症に対しては、炎症性マーカー(TNF- $\alpha$ , IL-6, MCP-1)が抑制されており、抗炎症作用を示していることを明らかにした。他方、A-CNP では、野生型と比較して変化は見いだせなかった。これは、血管内皮細胞を含む肝臓に対する直接作用を呈する E-CNP と、脂肪組織から肝臓へと間接的な作用となる A-CNP との違いが反映されていることが考察される。

#### (7) 結語

骨代謝調節因子 CNP が、肥満・糖尿病改善やエネルギー消費亢進作用を示すことを、2種類の CNP 過剰発現マウス(A-CNP, E-CNP)を用いて明らかにした。これは、骨代謝調節因子 BMP-3b と共通した作用であり、骨組織を中心とする新たな臓器関連代謝調節ネットワークシステムの一つの実証に繋がった。

#### <引用文献>

- Ferron M, et al. Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism, Cell, 142, 296-308, 2010
- Shults TJ, et al. Emerging role of bone morphogenetic proteins in adipogenesis and energy metabolism. Cytokine & Growth Factor Reviews, 20, 523, 2009
- Yadav VK, et al. A serotonin-dependent mechanism explains the leptin regulating of bone mass, appetite, and energy expenditure. Cell, 138, 976-989, 2009

Hino J, et al. Bone morphogenetic protein-3 (BMP-3b) is expressed in adipocytes and inhibits adipogenesis as a unique complex. *Int J Obes*, 36, 725-734, 2012

Yasoda A, et al. Natriuretic Peptide regulation of endochondral ossification. Evidence for possible roles of the C-type natriuretic peptide/guanylyl cyclase-B pathway. *J Biol Chem*, 273, 11695-11700, 1998

Sudoh T, et al. C-type natriuretic peptide (CNP): a new member of natriuretic family in porcine brain. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 168, 863-870, 1990

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 8件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 4件）

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Mori Kenji, Ida Takanori, Fudetani Mami, Mori Miwa, Kaiya Hiroyuki, Hino Jun, Nakahara Keiko, Murakami Noboru, Miyazato Mikiya, Kangawa Kenji  | 4. 巻<br>7               |
| 2. 論文標題<br>Identification of neuromedin U precursor-related peptide and its possible role in the regulation of prolactin release   | 5. 発行年<br>2017年         |
| 3. 雑誌名<br>Scientific Reports   | 6. 最初と最後の頁<br>10468     |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s41598-017-10319-9   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)   | 国際共著<br>-               |
| 1. 著者名<br>Teranishi Hitoshi, Hayashi Masafumi, Higa Ryoko, Mori Kenji, Miyazawa Takashi, Hino Jun, Amano Yuichiro, Tozawa Ryuichi, Ida Takanori, Hanada Toshikatsu, Miyazato Mikiya, Hanada Reiko, Kangawa Kenji, Nakao Kazuwa | 4. 巻<br>99              |
| 2. 論文標題<br>Role of neuromedin U in accelerating of non-alcoholic steatohepatitis in mice   | 5. 発行年<br>2018年         |
| 3. 雑誌名<br>Peptides   | 6. 最初と最後の頁<br>134 ~ 141 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.peptides.2017.09.011   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |
| 1. 著者名<br>Otani Kentaro, Tokudome, Hino Jun, Miyazato Mikiya, Kenji Kangawa, et al.  | 4. 巻<br>141             |
| 2. 論文標題<br>Deficiency of Cardiac Natriuretic Peptide Signaling Promotes Peripartum Cardiomyopathy-Like Remodeling in the Mouse Heart   | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>Circulation  | 6. 最初と最後の頁<br>571 ~ 588 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1161/CIRCULATIONAHA.119.039761  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |
| 1. 著者名<br>日野 純、宮里 幹也、寒川賢治  | 4. 巻<br>8               |
| 2. 論文標題<br>C型ナトリウム利尿ペプチド (CNP) と慢性炎症疾患としての肥満・糖尿病   | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>別冊 BIO Clinica 慢性炎症と疾患   | 6. 最初と最後の頁<br>13 ~ 17   |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし   | 査読の有無<br>無              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|  |                   |
|--|-------------------|
| 1. 著者名<br>Ogawa Yuko, Tsuji Masahiro, Tanaka Emi, Miyazato Mikiya, Hino Jun  | 4. 巻<br>9         |
| 2. 論文標題<br>Bone Morphogenetic Protein (BMP)-3b Gene Depletion Causes High Mortality in a Mouse Model of Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy | 5. 発行年<br>2018年   |
| 3. 雑誌名<br>Frontiers in Neurology   | 6. 最初と最後の頁<br>397 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.3389/fneur.2018.00397   | 査読の有無<br>有        |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)   | 国際共著<br>-         |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Bae Cho-Rong, Hino Jun, Hosoda Hiroshi, Miyazato Mikiya, Kangawa Kenji   | 4. 巻<br>209             |
| 2. 論文標題<br>C-type natriuretic peptide (CNP) in endothelial cells attenuates hepatic fibrosis and inflammation in non-alcoholic steatohepatitis | 5. 発行年<br>2018年         |
| 3. 雑誌名<br>Life Sciences  | 6. 最初と最後の頁<br>349 ~ 356 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.lfs.2018.08.031  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Hino J, Nakatani M, Arai Y, Tsuchida K, Shirai M, Miyazato M, Kangawa K   | 4. 巻<br>41              |
| 2. 論文標題<br>Overexpression of bone morphogenetic protein-3b (BMP-3b) in adipose tissues protects against high-fat diet-induced obesity | 5. 発行年<br>2017年         |
| 3. 雑誌名<br>International Journal of Obesity  | 6. 最初と最後の頁<br>483 ~ 488 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/ijo.2017.15   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|  |                    |
|--|--------------------|
| 1. 著者名<br>Bae Cho-Rong, Hino Jun, Hosoda Hiroshi, Arai Yuji, Son Cheol, Makino Hisashi, Tokudome Takeshi, Tomita Tsutomu, Kimura Toru, Nojiri Takashi, Hosoda Kiminori, Miyazato Mikiya, Kangawa Kenji | 4. 巻<br>7          |
| 2. 論文標題<br>Overexpression of C-type Natriuretic Peptide in Endothelial Cells Protects against Insulin Resistance and Inflammation during Diet-induced Obesity  | 5. 発行年<br>2017年    |
| 3. 雑誌名<br>Scientific Reports   | 6. 最初と最後の頁<br>9807 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s41598-017-10240-1   | 査読の有無<br>有         |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)   | 国際共著<br>-          |

|   |                    |
|---|--------------------|
| 1. 著者名<br>Bae Cho-Rong, Hino Jun, Hosoda Hiroshi, Son Cheol, Makino Hisashi, Tokudome Takeshi, Tomita Tsutomu, Hosoda Kiminori, Miyazato Mikiya, Kangawa Kenji            | 4. 巻<br>8          |
| 2. 論文標題<br>Adipocyte-specific expression of C-type natriuretic peptide suppresses lipid metabolism and adipocyte hypertrophy in adipose tissues in mice fed high-fat diet | 5. 発行年<br>2018年    |
| 3. 雑誌名<br>Scientific Reports  | 6. 最初と最後の頁<br>2093 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s41598-018-20469-z  | 査読の有無<br>有         |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている(また、その予定である)   | 国際共著<br>-          |

[学会発表] 計9件(うち招待講演 3件/うち国際学会 1件)

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>上住 聡芳、上住 円、深田 宗一朗、日野 純、土田 邦博 |
| 2. 発表標題<br>間質の間葉系前駆細胞が司る筋組織恒常性維持機構      |
| 3. 学会等名<br>第93回 日本薬理学会年会 シンポジウム         |
| 4. 発表年<br>2020年                         |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Jaesung An; Kunikazu Tsuji; Hiroaki Onuma; Takashi Hoshino; Kei Inomata; Hiroki Katagiri; Kazumasa Miyatake; Yusuke Nakagawa; Jun Hino; Hiroshi Hosoda; Ichiro Sekiya; Takeshi Muneta; Hideyuki Koga |
| 2. 発表標題<br>Pain Persistence And Articular Cartilage Degeneration Were Significantly Alleviated By An Anti-fibrotic Drug Treatment In Monoiodoacetate Induced Rat Arthritis Model                                |
| 3. 学会等名<br>ORS 2020 Annual Meeting (国際学会)   |
| 4. 発表年<br>2020年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>日野 純                               |
| 2. 発表標題<br>C型ナトリウム利尿ペプチド(CNP)の肥満・糖尿病における新たな作用 |
| 3. 学会等名<br>日本杜仲研究会 第13回定期大会(招待講演)             |
| 4. 発表年<br>2018年                               |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>日野 純、ベ チョロン、細田 洋司、孫 徹、槇野 久士、徳留 健、富田 努、細田 公則、宮里 幹也、寒川 賢治 |
| 2. 発表標題<br>C型ナトリウム利尿ペプチド (CNP) の肥満における抗炎症、インスリン抵抗性改善、エネルギー消費亢進作用   |
| 3. 学会等名<br>第23回アディポサイエンス・シンポジウム (招待講演)                             |
| 4. 発表年<br>2018年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>上住聡芳、上住円、深田宗一郎、笠井健広、大野欽司、中谷直史、日野純、土田邦博 |
| 2. 発表標題<br>間質の間葉系前駆細胞による骨格筋組織の健全性維持               |
| 3. 学会等名<br>第91回日本内分泌学会学術総会 (招待講演)                 |
| 4. 発表年<br>2018年                                   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>ベ チョロン、日野 純、細田 洋司、孫 徹、槇野 久士、徳留 健、富田 努、細田 公則、宮里 幹也、寒川 賢治 |
| 2. 発表標題<br>肥満におけるCNPの新たな作用 抗炎症、耐糖能改善、白色脂肪組織の褐色化作用                  |
| 3. 学会等名<br>第38回日本肥満学会  |
| 4. 発表年<br>2017年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>ベ チョロン、日野 純、細田 洋司、孫 徹、槇野 久士、徳留 健、富田 努、細田 公則、宮里 幹也、寒川 賢治     |
| 2. 発表標題<br>血管内皮由来C型ナトリウム利尿ペプチド (CNP) の肥満における抗炎症、インスリン抵抗性改善、エネルギー消費亢進作用 |
| 3. 学会等名<br>第21回日本心血管内分泌代謝学会学術総会  |
| 4. 発表年<br>2017年  |



|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>日野 純、ベ チョロン、細田 洋司、孫 徹、槇野 久士、徳留 健、富田 努、細田 公則、宮里 幹也、寒川 賢治 |
| 2. 発表標題<br>CNPの肥満における新たな作用-抗炎症、インスリン抵抗性改善、白色脂肪組織のBeige化作用          |
| 3. 学会等名<br>2017年度生命科学系学会合同年次大会                                     |
| 4. 発表年<br>2017年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>ベ チョロン、日野 純、宮里 幹也、寒川 賢治  |
| 2. 発表標題<br>C型ナトリウム利尿ペプチド(CNP)の高脂肪食性肥満における作用 脂肪細胞および血管内皮細胞特異的過剰発現マウスを用いた検討 |
| 3. 学会等名<br>第90回日本内分泌学会学術総会  |
| 4. 発表年<br>2017年   |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|                   | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                        | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)                              | 備考 |
|-------------------|--|--|----|
| 研究<br>分<br>担<br>者 | 宮里 幹也<br><br>(Miyazato Mikiya)<br><br>(50291183) | 国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・部長<br><br><br><br>(84404) |    |