

令和 4 年 6 月 2 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K08027

研究課題名(和文)新規摂食抑制機構の解明と治療法の開発

研究課題名(英文)Elucidation of feeding mechanism and development of treatment method

研究代表者

小島 敏弥 (Kojima, Toshiya)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30625588

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)：視床下部弓状核は摂食中枢として機能している。転写因子Kruppel-like factor 5 (KLF5)が視床下部弓状核に存在する。KLF5はAMPK、Fox01と拮抗することでAgrp活性化を抑制し、KLF5がAMPK、Fox01、Agrpをつなぐ鍵因子であることが示唆された。AgRP活性抑制(食欲抑制)にKLF5が必須である。KLF5は摂食調節に関与し、多面的に代謝制御に寄与することを明らかとした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肥満は臓器機能障害を引き起こし、心血管疾患の重要なリスクとなる。肥満の原因として過食を始めとする摂食調節の機序解明は重要である。摂食は視床下部弓状核で調節されている。転写因子Kruppel-like factor 5 (KLF5)が視床下部弓状核に存在し、摂食調節に関与することで、多面的に代謝制御に寄与することを明らかとした。有効な予防・治療法の確率につながる知見であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Increasing prevalence of obesity is an urgent public health challenge. The arcuate nucleus of the hypothalamus functions as a feeding center. The transcription factor Kruppel-like factor 5 (KLF5) is present in the arcuate nucleus of the hypothalamus. KLF5 suppresses Agrp activation by antagonizing AMPK and Fox01, suggesting that KLF5 is a key factor connecting AMPK, Fox01 and Agrp. KLF5 is essential for suppressing AgRP activity (appetite suppression). It was clarified that KLF5 is involved in feeding regulation and contributes to metabolic regulation in many ways.

研究分野：循環器内科

キーワード：転写因子KLF5 摂食調節 AgRP

## 1. 研究開始当初の背景

過食と運動不足を背景としてわが国でも、特に男性で肥満は増え続けている。平成 21 年の国民健康栄養調査によると BMI 25 の肥満者は男性 28.6%、女性 20.6%である。肥満はメタボリックシンドロームに代表されるように、複数の臓器機能障害を引き起こし、動脈硬化性疾患、心不全を始めとする心血管疾患の重要なリスクとなる。肥満の分子機序を明らかにし、有効な予防・治療法を打ち立てることは喫緊の課題である。その機序として、摂食調節は重要である。例えば、1日に 100kcal 余分なエネルギーの摂取は 1年間で 4kg の体重増加をもたらす。摂食は主に視床下部の摂食中枢で制御されていることが知られているが、その分子機序には不明な点が多い。

## 2. 研究の目的

摂食は、膵臓からのインスリン、脂肪組織からのレプチンなど、末梢代謝の情報を統合する摂食中枢によって制御される。特に視床下部弓状核に主要な摂食中枢が存在し、Agouti-related protein (AgRP)を発現して摂食を促進する AgRP ニューロンや Pro-opiomelanocortin (POMC)を発現して摂食を抑制する POMC ニューロンが挙げられる。これらのニューロンが受容するシグナ

ルについては近年研究が進んだが、転写制御機構についてはよく分かっていない。

我々はこれまで転写因子 KLF5 が動脈硬化、心肥大、線維化を含む心血管疾患の病態に関与していること、さらには脂肪細胞分化、骨格筋における脂肪の燃焼に関与していることを報告してきた。KLF5 ヘテロノックアウトマウスでは体重減少が見られる一方で摂食量増加がみられた。転写因子 KLF5 が摂食調節においても何らかの役割を果たしているという仮説を立て、本研究では転写因子 KLF5 による視床下部弓状核 AgRP ニューロンの機能制御機構を検討し、末梢からの情報に応じた摂食調節の分子機序を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

培養ニューロンを用いた KLF5 転写ネットワークの解析

AgRP ニューロン特異的 KLF5 ノックアウトマウスを用いた摂食行動における KLF5 機能の in vivo 解析

以上を進めた。また、AgRP の発現、調節に forkhead box-containing protein of the O subfamily (FoxO)-1 が関与していることが知られているが、Agrp プロモーターにおける KLF5 と FoxO1 の結合部位は隣接していることに着目し、KLF5 と FoxO1 の相互作用に着目して、転写ネットワークを解明するとともに、AgRP ニューロンが KLF5 の SUMO 化を介して末梢からのシグナルに応答するというモデルを検証した。

## 4. 研究成果

(1) 免疫組織化学において、KLF5 は視床下部弓状核に局在して発現しており、特に 1. 研究開始当初の背景

AgRP ニューロンに発現が見られた。培養ニューロンにおいて KLF5 が AgRP の発現を抑制しており、摂食を負に調節すると考えられた。

(2) Agrp プロモーター領域において、KLF5 結合部位の存在が示唆された。Agrp プロモーターにおける KLF5 結合領域の部位特異的変異導入により KLF5 による Agrp プロモーターの抑制がみられなくなった。これは KLF5 が Agrp の抑制に必須であることを示唆するものである。

(3) クロマチン免疫沈降により KLF5 が Agrp プロモーター領域に直接的に作用すること、更には低グルコース刺激により結合が外れるという知見を得た。

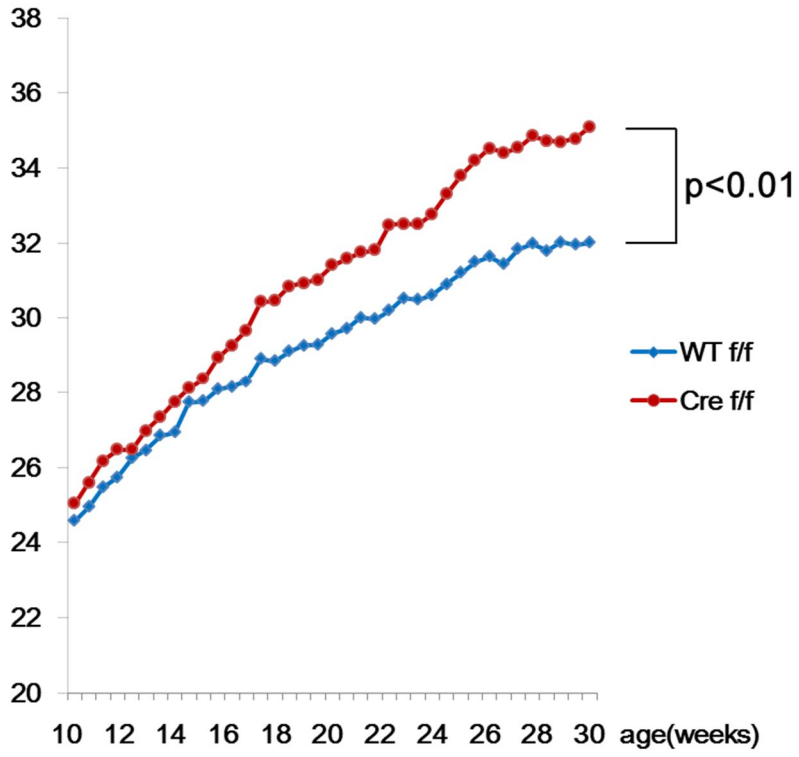
(4) forkhead box-containing protein of the O subfamily (FoxO)-1 は PI3K 依存性の代謝や細胞分化を調節していると共に AgRP を誘導するが、ルシフェラーゼアッセイにおいて KLF5 と FoxO1 の相互作用を示唆する知見を得た。FoxO1 は AgRP に対して促進的に作用し、KLF5 はそれに対して抑制的に作用していた。KLF5 は高グルコース状態では FoxO1 と結合しているが、低グルコース状態では FoxO1 と解離していた。

(5) AgRP の調節には FoxO1 のリン酸化が関与することが知られている。FoxO1 はリン酸化により核外に移行し、非活性化する。培養ニューロンにおける、Klf5 のノックダウンにより FoxO1 のリン酸化が減少した。KLF5 が FoxO1 のリン酸化に関与し、AgRP を抑制していることが示唆された。

(6) 翻訳後修飾である SUMO 化により多くの転写が抑制されていることが知られている。KLF5 の SUMO 化との関連について検討した。非 SUMO 化 KLF5 は FoxO1 により活性化した Agrp プロモーターを抑制せず、SUMO 特異的プロテアーゼである SENP1 により Agrp プロモーター活性が上昇した。KLF5 の SUMO 化が Agrp の抑制に必須であると考えられた (図 1)。

(7) Agrp 特異的 Klf5 ノックアウトマウスを作成した。Agrp 特異的 Klf5 ノックアウトマウスの視床下部では Agrp mRNA 発現が増加していた。しかし、骨格筋において、エネルギー代謝に





5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	藤生 克仁  (Fujiu Katsuhito)  (30422306)	東京大学・医学部附属病院・特任准教授    (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関