

令和 5 年 6 月 11 日現在

機関番号：32408

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09013

研究課題名(和文) 内臓脂肪特異的酸化ストレス防御機構に関わる転写因子の同定と機能解析

研究課題名(英文) Functional analysis of transcription factors involved in visceral fat-specific oxidative stress defense mechanisms

研究代表者

宇田川 陽秀 (Udagawa, Haruhide)

文教大学・健康栄養学部・特任講師

研究者番号：50533882

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、内臓脂肪に特徴的な酸化ストレス調節因子としてGata5の機能的意義を検討するために、Gata5過剰発現細胞株またはGata5遺伝子欠損(KO)マウスの表現型解析をおこなった。まず脂肪前駆細胞におけるGata5の過剰発現は、抗酸化能に関わる分子の発現を増大させ、過酸化水素に対する抗酸化能を増強させた。次にGata5KOマウスを作成し、普通食及び高脂肪食飼育での表現型を分析した。その結果、内臓脂肪組織重量は、普通食および高脂肪食ともに、野生型に比較してGata5KOマウスで有意に増加した。以上の結果より、Gata5は内臓脂肪組織優位に発現し、抗酸化分子の発現を調節す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

内臓脂肪における酸化ストレスに対する防御機構の破綻は、肥満や2型糖尿病など多くの疾患発症に繋がるとされているが、未だその詳細な分子メカニズムは明らかではない。日本人は白人に比して、肥満度が小さくても健康障害を生じやすく、内臓脂肪で特徴的な遺伝子の機能的意義を解明することは喫緊の課題であった。本研究において、内臓脂肪組織で発現が高い転写因子Gata5を同定し機能を解析した。その結果、Gata5は、内臓脂肪組織重量の増減や脂肪細胞の抗酸化能に関わっていることが明らかとなった。今後、Gata5による抗酸化能に関する分子機序を明らかにすることで、肥満関連疾患の予防および治療につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we examined the phenotype of Gata5-overexpressing cell lines or Gata5 gene-knockout (KO) mice to investigate the functional significance of Gata5 as a regulator of oxidative stress characteristic of visceral fat. First, overexpression of Gata5 in pre-adipocyte increased the expression of molecules involved in antioxidant capacity and enhanced antioxidant capacity against hydrogen peroxide. Next, Gata5 KO mice were then generated and analyzed for phenotype on normal and high-fat diet feeding. The results showed that weight of visceral adipose tissue was significantly increased in Gata5 KO mice compared to wild-type mice on both normal and high-fat diets. These results suggest that Gata5 is expressed predominantly in visceral adipose tissue and regulates the expression of antioxidant molecules.

研究分野：分子栄養学

キーワード：Gata5 肥満 脂肪細胞 酸化ストレス 内臓脂肪組織

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肥満人口は世界で 22 億人となっており、日本でも食生活の欧米化や過食により増加し、男性 28.6%、女性 20.3%が肥満となっている。肥満は、2 型糖尿病をはじめ多くの疾患のリスク因子となり、国民の健康増進の上で介入すべき最も重要な病態である。肥満における脂肪組織は、量だけでなく、分布による生物学的な違いが注目されている。日本人は白人に比して、肥満度が小さくても健康障害を生じやすく、内臓脂肪で特徴的な遺伝子の機能的意義を解明することは、脂肪分布と疾患との関係の分子機序の解明という喫緊の課題に必須であり、肥満や糖尿病などの病態解明の一助になると考えられる。また、内臓脂肪における酸化ストレスに対する防御機構の破綻は肥満や 2 型糖尿病など多くの疾患発症に繋がるとされているが、未だその詳細な分子メカニズムは明らかではない。

2. 研究の目的

内臓脂肪においては酸化ストレス刺激に対する防御機構の破綻が多くの疾患発症に関わること、Gata5-null マウスにおいては酸化ストレスが増加していることが報告されていた。そこで著者らは、皮下脂肪に比して内臓脂肪で発現が高い Gata5 は、抗酸化分子の発現を誘導し、酸化ストレスに対する防御機構を調節しているのではないかと、という仮説を立てた。本研究では、脂肪細胞特異的 Gata5 欠損マウスの表現型解析から、内臓脂肪に特徴的な酸化ストレス調節因子として Gata5 の機能的意義を検証した。

3. 研究の方法

Gata5 遺伝子を過剰発現した C3H10T1/2 細胞株の樹立と酸化ストレスの耐性試験

Tet-On vector に Gata5 遺伝子を組み込んだプラスミドを作成し、脂肪細胞に分化誘導が可能な C3H10T1/2 細胞にエレクトロポレーション法にて導入した。薬剤セレクションの後に、Gata5 を安定的に発現し、脂肪細胞分化能の高い Gata5 過剰発現 C3H10T1/2 細胞株を樹立し、分化誘導前後の酸化ストレス耐性を検討した。

全身性 Gata5 遺伝子欠損マウスの作成と表現型分析

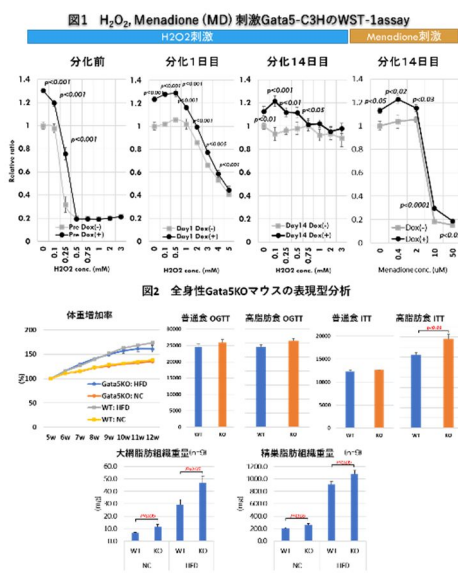
Gata5 遺伝子欠損 (KO) マウスは、CRISPR/Cas9 システムを用いてエクソン 2 が欠損するように作成した。作出したマウスのタイピングから、全身性に Gata5 を欠損した KO マウスを得た。このマウスを用いて、Gata5 遺伝子の発現解析を行い、Gata5 の発現が検出限界以下であった個体を全身性 Gata5 遺伝子欠損 (Gata5KO) マウスとして使用した。Gata5KO マウスに通常食および高脂肪食を与え 2 ヶ月間飼育した。飼育期間中、体重および随時血糖を測定した。飼育期間終了後に解剖を行い、内臓脂肪および皮下脂肪組織重量を測定した。

4. 研究成果

分化誘導過程において Gata5 を過剰発現した C3H10T1/2 細胞株は、脂肪細胞への分化が著しく抑制された。そこで、ドキシサイクリンを添加し、脂肪細胞分化前後で Gata5 の発現を誘導し、脂肪前駆細胞および成熟脂肪細胞における酸化ストレス耐性試験を行った。図 1 に示す通り、Gata5 を過剰発現した前駆脂肪細胞および成熟脂肪細胞は、過酸化水素に対する耐性が有意に増大することが示唆された。また、成熟脂肪細胞では、酸化ストレス誘導剤である Menadione による耐性も有意に増大することが示唆された。以上の結果から、脂肪細胞における Gata5 の発現は、酸化ストレスの耐性を増強することが認められた。

次に Gata5KO マウスを作成し脂肪組織に及ぼす影響について検討した(図 2)。野生型マウスと Gata5KO マウスの内臓脂肪組織から RNA を抽出し、Gata5 の mRNA 発現量を測定した結果、野生型マウスと比較して Gata5KO マウスの Gata5 mRNA 量は検出限界以下であった。普通食および高脂肪食を 12 週間負荷した結果、体重増加率は、普通食、高脂肪食共に、WT と KO マウス間に顕著な差は認められなかった。12 週齢における経口ブドウ糖負荷試験(OGTT)、インスリン負荷試験(ITT)の結果、通常食では有意な差は認められなかった。一方、高脂肪食を負荷した Gata5KO マウスにおいて、ITT 後血糖値の有意な増加が認められた。従って、Gata5KO マウスへの高脂肪食負荷は、インスリン抵抗性を増大させることが示唆された。

飼育終了後に吸入麻酔下で解剖し、内臓脂肪および皮下脂肪組織重量を測定した。Gata5KO マウスは、野生型に比較して大網脂肪組織および精巣上体脂肪組織重量の有意な増加が認められた。以上の結果より、Gata5 遺伝子の抑制は、内臓脂肪組織重量の増加だけでなく、インスリン抵抗性を増大させることが示唆された。



本研究の結果から、Gata5 遺伝子が脂肪細胞に発現することで、酸化ストレスに対する耐性を増強していることが明らかとなった。また Gata5 の発現が低下することで内臓脂肪組織重量が増大し、インスリン抵抗性も惹起されることが示された。以上の結果より、内臓脂肪組織において、Gata5 が正常に発現し機能することは、内臓脂肪機能の維持だけでなく、全身性の恒常性維持に重要であることが示唆された。今後、転写因子である Gata5 によって調節される酸化ストレス関連因子の同定や機能解析によって、肥満関連疾患の発症メカニズムや予防法の開発が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1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 1件）

1. 著者名 Udagawa Haruhide, Hiramoto Masaki, Kawaguchi Miho, Uebanso Takashi, Ohara Imaizumi Mica, Nammo Takao, Nishimura Wataru, Yasuda Kazuki	4. 巻 11
2. 論文標題 Characterization of the taste receptor related G protein, gustducin, in pancreatic cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 814 ~ 822
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jdi.13214	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 1件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 宇田川 陽秀, 柳田 圭介, 舟橋 伸昭, 添田 光太郎, 南茂 隆生, 平本 正樹, 西村 渉, 進藤 英雄, 今泉 美佳, 植木 浩二郎, 安田 和基
2. 発表標題 内臓脂肪組織由来培養細胞の中皮細胞関連マーカー発現におけるGata5の機能
3. 学会等名 第43回日本肥満学会・第40回日本肥満症治療学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宇田川 陽秀, 舟橋 伸昭, 中野 堅太, 柳田 圭介, 岡村 匡史, 添田 光太郎, 南茂 隆生, 平本 正樹, 西村 渉, 進藤 英雄, 今泉 美佳, 植木 浩二郎, 安田 和基
2. 発表標題 内臓脂肪組織の脂肪細胞と中皮細胞における転写因子Gata5の機能解析
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会 若手研究助成金成果報告会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宇田川 陽秀, 舟橋伸昭, 南茂隆生, 平本 正樹, 西村 渉, 今泉美佳, 植木浩二郎, 安田 和基
2. 発表標題 内臓脂肪組織優位に発現する転写因子Gata5による酸化ストレス防御機構
3. 学会等名 第63回 日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宇田川 陽秀, 舟橋 伸昭, 南茂 隆生, 平本 正樹, 西村 渉, 植木 浩二郎, 安田 和基
2. 発表標題 Gata5はグルタチオン-S-トランスフェラーゼの発現を増強させ内臓脂肪の酸化ストレスを調節する
3. 学会等名 2020年日本糖尿病・肥満動物学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宇田川 陽秀, 舟橋伸昭, 南茂隆生, 平本 正樹, 西村 渉, 関洋介, 笠間和典, 安田 和基
2. 発表標題 内臓脂肪組織の酸化ストレス防御機構に対する転写因子Gata5の機能解析
3. 学会等名 第62回 日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宇田川 陽秀, 舟橋 伸昭, 南茂 隆生, 平本 正樹, 西村 渉, 植木 浩二郎, 安田 和基
2. 発表標題 Gata5はグルタチオン-S-トランスフェラーゼの発現を増強させ内臓脂肪の酸化ストレスを調節する
3. 学会等名 第40回日本肥満学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宇田川 陽秀, 舟橋 伸昭, 南茂 隆生, 平本 正樹, 西村 渉, 植木 浩二郎, 安田 和基
2. 発表標題 Gata5はグルタチオン-S-トランスフェラーゼの発現を増強させ内臓脂肪の酸化ストレスを調節する
3. 学会等名 第34回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会
4. 発表年 2020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
研究協力者	中野 堅太 (Nakano Kenta)		
研究協力者	岡村 匡史 (Okamura Tadashi)		
研究協力者	安田 和基 (Yasuda Kazuki)		

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
---------	---------