

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17951

研究課題名（和文）肝インスリンシグナルが脳レプチン作用に影響を与える新規臓器連関の解明

研究課題名（英文）Hepatic insulin action affects energy expenditure

研究代表者

高橋 圭（Takahashi, Kei）

東北大学・医学系研究科・助教

研究者番号：00644808

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：まず興味深いことに、肝インスリン受容体を欠損させることにともない、体重の増加が認められた。その機序として、摂食量の増加、および、酸素消費量、すなわち個体レベルのエネルギー消費の低下が認められた。詳細な解析を行うと、褐色脂肪組織において熱産生が低下していることが示唆され、個体レベルのエネルギー消費低下の要因になっているものと考えられた。さらに、褐色脂肪組織を支配する交感神経活性の低下、およびその交感神経のプレモーターニューロンである延髄吻側縫線核の活動低下が明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病は肥満の合併が多いが、根治療法が存在せず、特に食行動変容を伴う場合は、コントロールが非常に困難である。本研究で発見した新規の肝臓-脳-褐色脂肪組織連関は、糖尿病や肥満の病態の理解を深め、食欲や食行動異常の制御を可能とする新たな治療法の創出に発展する可能性があり、創薬の観点でも創造的である。

研究成果の概要（英文）：We attempted to elucidate what happens when insulin action in the liver becomes decreased. Particularly, we studied the effects of decreased hepatic insulin action on systemic energy metabolism. We discovered that decreased insulin action in the liver reduces leptin action in the hypothalamus, increases food intake, decreases sympathetic-driven BAT thermogenesis, which altogether results in body weight gain.

研究分野：糖尿病

キーワード：肝臓 インスリン作用 エネルギー摂取 エネルギー消費 熱産生

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

個体の体重は種々の臓器間相互作用によって密に制御されている。生理的な状態では、過食により脂肪が蓄積すると、脂肪細胞からレプチンが分泌され、血流を介して脳(主に視床下部)に作用し、摂食抑制やエネルギー消費増大などをもたらす、体重増加に対して抑制的に働く (**Cell Metab.2012;15:292**)。一方、飢餓では脳へのレプチン作用が低下し、体重を増加させる方向の反応が進む。これらの系が十分に機能すれば、体重の恒常性は保たれるはずであるが、実際には過食の継続により肥満人口が爆発的に増加している。肥満者の大部分は高レプチン血症であるが、脳(視床下部)におけるレプチンの作用不全が生じている(レプチン抵抗性)ため、摂食が増加し、そのことでさらなる脂肪蓄積が生じ、肥満が一層増悪するという悪循環に陥っている (**Cell Metab.2012;15:292**)。実際、肥満状態の視床下部では、レプチンの下流のシグナル伝達が種々の段階で抑制されていることが知られているが、そのようなシグナル伝達抑制がなぜ肥満状態の脳で生じるのか、換言すれば、肥満の背景にある種々の異常のうち、どの異常が脳での変化を生じさせるのか、という最も本質的な疑問は解明されておらず、それゆえレプチン抵抗性を改善する治療法の創出には程遠い現状にある。

肥満では、上述したレプチン抵抗性のみならず、肝臓を含む種々の臓器でインスリン抵抗性が生じることが知られている。研究代表者は、誘導性に肝臓選択的にインスリン受容体をノックアウトさせたマウス (**iLIRKO** マウス) を独自に作製したところ、**iLIRKO** マウスはノックアウト後に体重が増加するという予想外の表現型を見出した(図1)。**iLIRKO** マウスは、高レプチン血症を呈しているにもかかわらず、摂食量が増加し酸素消費量が低下するというレプチン抵抗性の状態にあることが明らかとなった。つまり、肝臓におけるインスリン作用低下が、脳のレプチン抵抗性を誘導し、体重増加を引き起こすという、これまでは知られていない肝臓-脳連関の存在が明らかとなった。このインスリンシグナルとレプチンシグナルの新規臓器間連関機構がどのような機序で生じるのか、その生理的意義は何であるかはまだ明らかとなっておらず、本研究課題の本質的な「問い」であった。

2. 研究の目的

本研究では、肝臓におけるインスリン作用低下に端を発しレプチン作用に影響を与える新規臓器連関の分子メカニズムならびに生理的・病的意義を解明することを目的とした。本研究は、「肝インスリンシグナル低下」が「視床下部レプチンシグナル低下」を惹起するという研究代表者が独自に見出した現象を基盤とし、その機序や意義を解明するものであり、極めて学術的に独創的であると考えられる。また、このような臓器連関が存在すれば、体重増加で生じたインスリン抵抗性が肥満を惹起・悪化させ、その結果さらにインスリン抵抗性を増悪させるといった悪循環の形成に寄与する。そのため、本研究で新規臓器連関の分子機序を解明できれば、体重増加に影響を及ぼす病的機構の理解も深まり、インスリン抵抗性とレプチン抵抗性の悪循環を断ち切る新たな肥満治療ターゲットの発見に発展する可能性もあり、肥満の機序解明の点からも創造的と考えられる。

一方、研究代表者が見出した新しい肝臓-脳連関の生理的意義についての検討も本研究提案の大きな目的であった。肝臓へのインスリン作用が極端に低下する生理的な例の一つとして、飢餓があげられる。また、視床下部のレプチンシグナルを低下させる仕組みは、方向性としては摂食を促すものであるため、餌が得られた時により積極的に摂取し飢餓から抜け出すために重要な役割を果たしている可能性が想起される。従来、飢餓時に脳のレプチン作用が低下する機序は、脂肪細胞からのレプチン分泌の低下であると理解されてきた。研究代表者が見出したような新規臓器連関が飢餓でも機能すれば、飢餓から抜け出す手段としてレプチン分泌低下と相加/相乗的に摂食を亢進させうる。つまり本研究は、飢餓ではどのような応答が生じるのか、という生理学的な理解を書き換える可能性を秘めており、学術的に独創的である。

3. 研究の方法

まず、**iLIRKO** マウスのエネルギー消費が低下する機序の解明と脳におけるレプチン作用低下の詳細な検討を行った。続いて、**iLIRKO** マウスにおける肝臓-脳の連関を担う分子機構の解明を行った。さらに、肥満状態や飢餓状態の際、本メカニズムがどのように機能し、餌を与えた際の摂食行動に影響するかを検討した。

【平成 31 年度】

(1) **iLIRKO** マウスでエネルギー消費が低下する機序の解明

エネルギー消費の主要な手段は褐色脂肪組織 (**BAT**) における熱産生および自発運動による骨格筋収縮であることから、これらを評価した。

BAT の熱産生関連分子の遺伝子発現を、定量 **PCR** を用いて解析した。

BAT ノルエピネフリン含量は **BAT** を支配する交感神経の活性を反映することから、これを測定した。

研究室で有する小動物運動量測定装置を用い自発運動量を測定した。

(2) **iLIRKO** マウスの脳におけるレプチン作用低下の詳細な検討

レーザーマイクロダイセクション法を用いて視床下部弓状核を選択的に採取し、レプチン作用を媒介するニューロペプチドの発現を定量 PCR で解析した。

【平成 31 年度から令和 2 年度にかけて】

(3) iLIRKO マウスの肝臓-脳の連関を担う分子機構の解明

肝臓におけるインスリン作用低下という情報は、どのような経路で肝臓から脳に伝達されるのか、を検討した。研究代表者が所属する研究室では、肝臓起源の代謝情報が肝臓-迷走神経-脳という臓器連関を介して伝達されることを明らかにしてきた (Cell Metab 2006, Science 2006, Science 2008, Cell Metab 2012, Nat Commun 2015, PLoS One 2016 など)。iLIRKO マウスでも肝臓-迷走神経-脳の臓器連関で代謝情報が伝達されるのであれば、iLIRKO マウスでも迷走神経切断術による体重増加の抑制が予想されるが、実際に先行実験で切断術を行っても体重増加は抑制されず、iLIRKO マウスの場合は肝臓 - 脳連関に迷走神経が関与している可能性は低いと考えられた。そこで、肝臓はヘパトカインと総称される生理活性ペプチドを血中に分泌し臓器連関に寄与する例が存在するため、何らかのヘパトカインが肝臓 - 脳連関を担っている可能性に着目した。

iLIRKO マウスの肝臓から精製した RNA を用いてマイクロアレイにてスクリーニングを行い、発現量や分泌シグナル配列の有無からヘパトカインたりうる候補分子を抽出し、以下の方法でさらに絞り込んだ。

iLIRKO マウスの初代肝細胞培養を行い、候補分子が培養液中に分泌されるかを検討した。

アデノウイルスベクターを用いて候補分子に対する shRNA を iLIRKO マウスの肝臓に導入した。候補分子を iLIRKO マウスでノックダウンすることが体重増加や摂食亢進をどの程度抑制するかを比較検討し、候補分子の絞り込みを行なった。

からにより分子を絞り込めたので、この分子を Cre 依存的に肝臓で欠損させたマウスを作成し、体重や摂食への影響など、この分子の生理的な意義について予備的な検討をした。続いて、この分子を iLIRKO マウスの肝臓で欠損させたマウス (ダブル KO マウス) も作製し、iLIRKO マウスの表現型にどのような影響を及ぼすかなど、この分子の肥満における意義についても予備的に検討した。

4. 研究成果

まず興味深いことに、肝インスリン受容体を欠損させることにともない、体重の増加が認められた。その機序として、摂食量の増加、および、酸素消費量、すなわち個体レベルのエネルギー消費の低下が認められた。詳細な解析を行うと、褐色脂肪組織において熱産生が低下していることが示唆され、個体レベルのエネルギー消費低下の要因になっているものと考えられた。さらに、褐色脂肪組織を支配する交感神経活性の低下、およびその交感神経のプレモーターニューロンである延髄吻側縫線核の活動低下が明らかになった。一方、このノックアウトマウスでは、摂食量の増加や褐色脂肪組織熱産生の低下など、レプチン作用の低下を示唆する所見が認められたにも関わらず、レプチンの血中濃度は上昇していた。そこで、レプチンの主な作用部位として知られている視床下部において、レプチンの作用不全が生じている可能性を考え、レプチン負荷試験を行うと、レプチン投与によって生じる視床下部ニューロンの活性化が、ノックアウトマウスで有意に減弱していた。これらにより、肝臓におけるインスリン作用の低下は、視床下部のレプチン感受性の低下を惹起し、摂食を増加させ褐色脂肪組織の熱産生を低下させることで、体重増加をきたすことが示唆された。

以上、肝臓のインスリン作用の減弱を端緒とし、個体レベルでのエネルギー消費を制御する新たな臓器連関を発見した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4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 Nakatsu Y, Matsunaga Y, Yamamotoya T, Ueda K, Inoue M, Mizuno Y, Nakanishi M, Sano T, Yamawaki Y, Kushiyama A, Sakoda H, Fujishiro M, Ryo A, Ono H, Minamino T, Takahashi S, Ohno H, Yoneda M, Takahashi K, Ishihara H, Katagiri H, Nishimura Fi, Kanematsu T, Yamada T, Asano T	4. 巻 26
2. 論文標題 Prolyl Isomerase Pin1 Suppresses Thermogenic Programs in Adipocytes by Promoting Degradation of Transcriptional Co-activator PRDM16	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 3221 ~ 3230.e3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2019.02.066	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 Sawada Shojiro, Kodama Shinjiro, Tsuchiya Satoko, Kurosawa Satoko, Endo Akira, Sugawara Hiroto, Hosaka Shinichiro, Kawana Yohei, Asai Yoichiro, Yamamoto Junpei, Munakata Yuichiro, Izumi Tomohito, Takahashi Kei, Kaneko Keizo, Imai Junta, Imoto Hirofumi, Tanaka Naoki, Naitoh Takeshi, Ishigaki Yasushi, Katagiri Hideki	4. 巻 10
2. 論文標題 Continuous glucose monitoring in patients with remission of type 2 diabetes after laparoscopic sleeve gastrectomy without or with duodenojejunal bypass	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Obesity	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cob.12409	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 Hosaka Shinichiro, Yamada Tetsuya, Takahashi Kei, Dan Takashi, Kaneko Keizo, Kodama Shinjiro, Asai Yoichiro, Munakata Yuichiro, Endo Akira, Sugawara Hiroto, Kawana Yohei, Yamamoto Junpei, Izumi Tomohito, Sawada Shojiro, Imai Junta, Miyata Toshio, Katagiri Hideki	4. 巻 11
2. 論文標題 Inhibition of Plasminogen Activator Inhibitor-1 Activation Suppresses High Fat Diet-Induced Weight Gain via Alleviation of Hypothalamic Leptin Resistance	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Pharmacology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphar.2020.00943	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 -

1. 著者名 Sawada Shojiro, Tsuchiya Satoko, Kodama Shinjiro, Kurosawa Satoko, Endo Akira, Sugawara Hiroto, Hosaka Shinichiro, Kawana Yohei, Asai Yoichiro, Yamamoto Junpei, Munakata Yuichiro, Izumi Tomohito, Takahashi Kei, Kaneko Keizo, Imai Junta, Ito Azusa, Yasuda Masayuki, Kunikata Hiroshi, Nakazawa Toru, Katagiri Hideki	4. 巻 165
2. 論文標題 Vascular resistance of carotid and vertebral arteries is associated with retinal microcirculation measured by laser speckle flowgraphy in patients with type 2 diabetes mellitus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diabetes Research and Clinical Practice	6. 最初と最後の頁 108240 ~ 108240
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.diabres.2020.108240	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2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 高橋 圭、山田哲也、片桐秀樹
2. 発表標題 誘導性肝臓特異的インスリン受容体ノックアウトマウスは過食、熱産生低下とそれに引き続く体重増加を呈する
3. 学会等名 Tohoku Diabetes Research Conference for Young Investigators (T R Y) 東北糖尿病若手研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高橋 圭、山田哲也、片桐秀樹
2. 発表標題 肝臓からの臓器連関によるエネルギー代謝
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

〔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

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