

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08881

研究課題名（和文）エネルギー代謝異常を基盤とする疾患の病態解明

研究課題名（英文）Elucidation of the pathology of the diseases based on metabolic disorders

研究代表者

田中 廣壽（Tanaka, Hirotoshi）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・特別招聘教授

研究者番号：00171794

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：肥満モデル（慢性コルチコステロン投与およびob/ob）において、骨格筋グルココルチコイド受容体（GR）欠損マウスでは、脂肪組織重量増加の抑制、脂肪肝の軽減、筋萎縮の抑制、高インスリン血症・高血糖の抑制がみられた。骨格筋GRシグナルを介して誘導される高インスリン血症は、脂肪組織重量を増加させる重要な因子であった。すなわち、生理的条件下で体組成を制御する「骨格筋GRを起点としたアラニン-FGF21軸」とは異なる系によって体組成が調節されていた。さらに、骨格筋GRの肥満病態における意義には性差もみられた。骨格筋GRを含む系が個体の条件に影響されながら肥満および糖尿病病態に関わることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨格筋GRシグナルへの介入は、肥満抑制のみならず、脂肪肝の軽減、筋萎縮防止、高インスリン血症の是正、高血糖の是正などを同時に実現できる可能性があることを示し、新規の治療標的機構を提示した。さらに、個体の条件によって代謝制御機構が変容すること、そのため疾患介入戦略も個体の状態に応じて調整する必要性があることも示唆した。

研究成果の概要（英文）：Fat accumulation in liver and adipose tissue, hyperglycemia, and hyperinsulinemia in the obesity model induced by chronic corticosterone (CORT) treatment or ob/ob mice improved in muscle-specific glucocorticoid receptor (GR)-knockout (GRmKO) mice. Muscle GR-mediated hyperinsulinemia was a critical factor for promoting fat accumulation in adipose tissue. This was in contrast to the regulator for body composition under physiological conditions, wherein the alanine-FGF21 axis is critical. In addition, the significance of muscle GR signaling in the pathophysiology of obesity showed sex differences. Thus, we provide insight into the treatment of obesity and diabetes under a conditionally determined pathway involving muscle GR signaling.

研究分野：エネルギー代謝

キーワード：骨格筋 肥満 糖尿病 グルココルチコイド受容体 グルココルチコイド インスリン 臓器関連 脂肪肝

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

個体レベルのエネルギー代謝や体組成はきわめて多くの要素・調節系の複雑な連関によって制御されており、しかも、それらの連関は、飢餓時と肥満では糖脂質代謝経路が大きく異なるなど、個体のおかれている状況によって著しく変動すると想定される。したがって、エネルギー代謝異常症の病態を理解するためには、生理的条件下のみならず 2 型糖尿病や肥満などの疾患モデルにおける詳細な検討が必須である。

ここで、研究代表者は先行研究において、非肥満条件下における骨格筋-肝臓-脂肪組織の連関に基づく体組成制御機構を示した (*Nat Commun.* 2015)。すなわち、グルココルチコイド受容体 (GR) の骨格筋特異的欠損マウス (GRmKO) の解析から、生理的条件下において筋肥大と脂肪組織萎縮とが連動して発現すること、その機構として、筋蛋白分解抑制に伴う血中アラニン濃度の低下が肝臓において感知されることで FGF21 の発現が亢進し、FGF21 が脂肪組織に作用することで脂肪分解が亢進することを示した。一方、このような骨格筋 GR を起点とするアラニン-FGF21 軸が肥満病態における体組成制御にも関与しているのかは、不明であった。

### 2. 研究の目的

本研究は、耐糖能異常を呈する肥満モデルにおいて、骨格筋を全身のエネルギー代謝のノードと捉え、とくに骨格筋 GR に焦点をあてて骨格筋 肝臓 脂肪連関の詳細および病態への関与を解明することを目的とした。

### 3. 研究の方法

マウスへの慢性コルチコステロン投与および ob/ob マウスの系 (肥満・糖尿病モデル) において、GRmKO マウスの各種の代謝関連解析 (多臓器マルチオミクスデータの解析を含む) を通じて病態基盤機構の候補を抽出し、生物学的検証によりその意義を検証した。

### 4. 研究成果

得られた主たる成果を以下に詳述する。

#### (1) 研究の主な成果

8 週齢のオスの C57BL/6 マウスに対して、コルチコステロン (CORT) を含む飲水を 4 週間投与することによって肥満および耐糖能異常を誘導した。経口投与された CORT は、全身の各臓器の細胞において GR を介して直接的な作用を発現するが、さらにそれらの変化が互いに影響しあうことで個体の状態が変容すると考えられる。そこで、骨格筋 GR シグナルが、臓器連関に基づく機構を介しながら個体の代謝変容に影響することで、肥満・耐糖能異常が惹起される、という仮説を立て、肥満・糖尿病の疾患モデルに GRmKO マウスを適用して検証した。

まず、上記の 4 週間の CORT 飲水投与による肥満モデルにおいて、CORT 誘導性の脂肪組織重量の増加、肝重量増加 (脂肪肝の誘導) 筋萎縮は、GRmKO マウスではすべて抑制された。さらに、GRmKO マウスでは、CORT 誘導性の様々な変化、すなわち、骨格筋における atrogene (*Foxo3*, *MuRF1*, *Atrogin1* など蛋白分解促進的な遺伝子群) の発現上昇、アラニンやグルタミンなどの血中アミノ酸濃度の上昇、高インスリン血症の誘導、随時血糖値の上昇、がすべて抑制された。とくに、CORT 投与開始後 1 週時点においてすでに高インスリン血症の誘導が GRmKO では抑制されていたが、この時点でインスリン負荷試験をおこなったところ、コントロールマウスと GRmKO マウスとで同等のインスリン抵抗性を示したことから、骨格筋 GR を介して高インスリン血症が誘導される機序は、全身的のインスリン抵抗性への影響というよりは、骨格筋タンパク質分解に伴う血中アミノ酸濃度の上昇と糖産生の亢進に基づくものが優位であると考えられた。加えて、GRmKO における CORT 誘導性の高インスリン血症の抑制は部分的であったことから、骨格筋以外の GR シグナルを介した (全身的なインスリン抵抗性を伴う) 高インスリン血症の誘導が並行していると考えられた。

ここで、4 週間の CORT 投与後の肝臓や脂肪組織を用いたトランスクリプトーム解析から、インスリンシグナル下で制御される遺伝子群の発現変化が顕著であることが明らかとなった。そこで次に、慢性 CORT 投与で誘導される高インスリン血症が個体全体の代謝に対してどのように影響するのかを追究することとした。ストレプトゾトシン (STZ) を前投与することで高インスリン血症が誘導されない条件においたマウスに対して、CORT 慢性投与を行った。STZ 前投与群では、CORT 投与にともなう脂肪組織重量の増加は完全に阻害される一方で、肝重量の増加は阻害されなかったことから、とくに脂肪組織重量の増加には高インスリン血症の誘導が必須の機構であると考えられた。さらに、骨格筋については、STZ 投与群では STZ 非投与群と比較して CORT 投与下での筋萎縮がより促進される一方、GRmKO マウスではそのような STZ 前投与による筋萎縮促進が弱かった。そのため、インスリンによる筋萎縮阻害機構が骨格筋に対して働いていること、その分子機構が GR シグナルへの介入である可能性が示唆された。実際、STZ 前処置の 5 日後にデキサメタゾン (DEX) 投与をおこなうと、DEX 投与 3 時間後の骨格筋における atrogene 発現は STZ 前処置により亢進し、また、C2C12 を用いた *in vitro* の系においても、培地中へのインスリン添加は、濃度依存的に、DEX 添加による atrogene 発現誘導を抑制した。以上から、CORT によ

り誘導される高インスリン血症の意義の一つとして、骨格筋萎縮を抑制する(フィードバックをかけている)機構があることが示唆された。

さらに、ob/ob マウスにおける肥満・糖代謝異常における骨格筋 GR の役割を検討した。7 週齢の ob/ob 背景の GRmKO マウスと ob/ob 背景のコントロールマウスとを比較すると、体重増加、脂肪組織や肝重量の増加は同等であった。しかし、骨格筋においては速筋タイプの筋線維の断面積が ob/ob GRmKO マウスでは大きく、また、ob/ob GRmKO マウスでは高インスリン血症の軽減に加え、腹腔内投与によるグルコース負荷試験に対する血糖上昇が軽減されたことから、骨格筋 GR を介した変化が個体全体の耐糖能に影響することが示唆された。ob/ob GRmKO における高インスリン血症の軽減は、その後の体組成変化に影響する可能性があると考え、7 週齢以降の体重変化を調べたところ、ob/ob GRmKO では体重増加(脂肪組織や肝臓の重量増加)が抑制され、20 週齢時点での随時血糖もコントロール群と比べて低かった。

以上、慢性 CORT 投与および ob/ob の二つの肥満モデルを用いて、骨格筋 GR が肥満誘導および耐糖能異常に対して促進的に作用すること、とくに肥満に伴う脂肪組織重量の増加には高インスリン血症が大きく寄与しており、骨格筋 GR シグナルは高インスリン血症を誘導することで体組成を制御する重要な機構の一つであることが明らかとなった (*JCI insight*, 2023)。

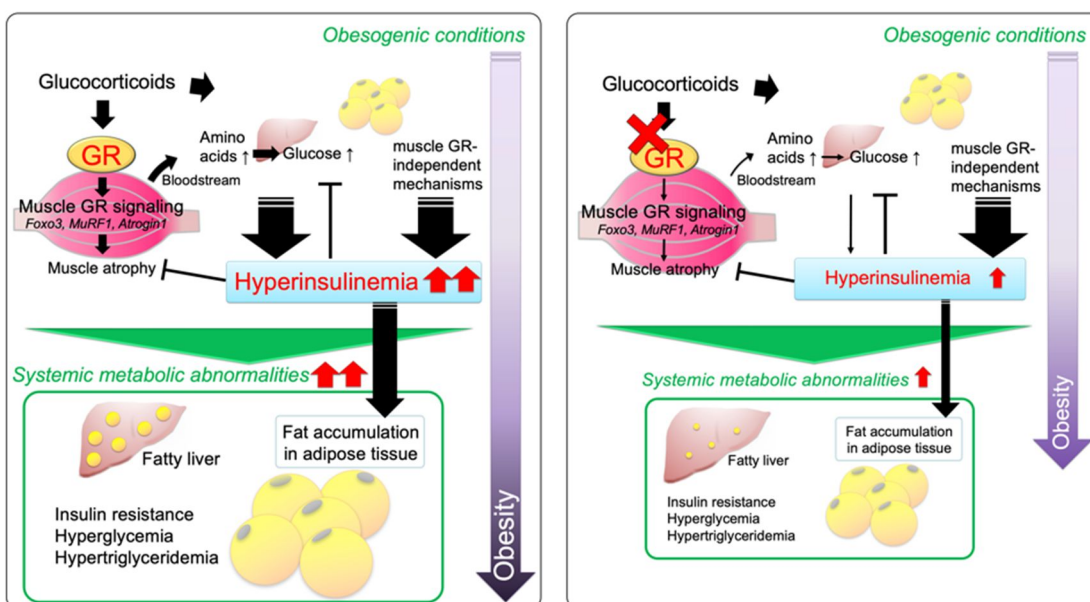
なお、非肥満条件下において骨格筋-肝臓-脂肪組織をつなぐアラニン-FGF21 軸の意義を本研究においても検証したが、GRmKO とコントロールマウスとで有意な差を認めず、肥満の病態における体組成制御には、その重要性は乏しいことが示唆された。さらに、上記表現型の性差を調べたところ、メスにおいては、肥満や耐糖能異常の発現に与える骨格筋 GR の影響はオスと比べて軽微であった。実際、少なくとも非肥満条件下において骨格筋 GR の制御するトランスクリプトームには性差があることを見出し (*Endocr Res*, 2021)、骨格筋 GR シグナルの性差が個体全体の代謝の性差に影響する可能性が想定された。

## (2)得られた成果の位置づけとインパクト

骨格筋 GR シグナルへの介入は、肥満抑制のみならず、脂肪肝の軽減、筋萎縮防止、高インスリン血症の是正、高血糖の是正などを同時に実現できる可能性があることを示し、既存の治療戦略とは一線を画す魅力的な標的機構を提示できた。さらに、個体の状態(非肥満と肥満、オスとメス、など)に応じて、体組成を制御する仕組みが異なることを示し、学術的にも興味深い知見が得られた。

## (3)今後の展望

本研究により、個体レベルの代謝変容をもたらす機構が個体の条件によって異なることが明らかとなり、疾患の病態基盤の複雑性が明らかとなった。今後も、様々なモデルを用いながら、個体の代謝の変容様式に関する理解をすすめていくことが、ヒトへの応用(個別合理的な疾患戦略の創成)を目指すうえで重要であると考えられる。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8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 7件）

1. 著者名 Yamazaki Hiroki, Uehara Masaaki, Yoshikawa Noritada, Kuribara-Souta Akiko, Yamamoto Motohisa, Hirakawa Yasuko, Kabe Yasuaki, Suematsu Makoto, Tanaka Hirotohi	4. 巻 8
2. 論文標題 The crucial role of muscle glucocorticoid signaling in accelerating obesity and glucose intolerance via hyperinsulinemia	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 e162382
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1172/jci.insight.162382	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 Motohisa Yamamoto, Hiroki Yamazaki, Hirotohi Tanaka, et al.	4. 巻 24
2. 論文標題 The differential diagnosis of IgG4-related disease based on machine learning.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Arthritis Res Ther.	6. 最初と最後の頁 71
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13075-022-02752-7.	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 YOSHIKAWA Noritada, YAMAMOTO Motohisa, KURIBARA-SOUTA Akiko, UEHARA Masaaki, YAMAZAKI Hiroki, TANAKA Hirotohi	4. 巻 67
2. 論文標題 Amino Acid Profile in 18 Patients with Rheumatic Diseases Treated with Glucocorticoids and BCAAs	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Nutritional Science and Vitaminology	6. 最初と最後の頁 180 ~ 188
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3177/jnsv.67.180	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 Akira Arakawa, Masaki Iizuka, Shunichi Matsuda, Erika Matsubara, Hiroki Yamazaki, Noritada Yoshikawa, Hirotohi Tanaka, Toshihiro Yoshizawa.	4. 巻 60
2. 論文標題 Aseptic Meningitis-retention Syndrome Associated with Tocilizumab in a Patient with Idiopathic Multicentric Castleman Disease.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Intern Med.	6. 最初と最後の頁 3995-3998
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2169/internalmedicine.6938-20. Epub 2021 Jul 3.	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 Yasuaki Kabe, Ikko Koike, Tatsuya Yamamoto, Miwa Hirai, Ayaka Kanai, Ryogo Furuhashi, Hitoshi Tsugawa, Erisa Harada, Kenji Sugase, Kazue Hanadate, Nobuji Yoshikawa, Hiroaki Hayashi, Masanori Noda, Susumu Uchiyama, Hiroki Yamazaki, Hirotohi Tanaka, Takuya Kobayashi, Hiroshi Handa, Makoto Suematsu.	4. 巻 13
2. 論文標題 Glycyrrhizin Derivatives Suppress Cancer Chemoresistance by Inhibiting Progesterone Receptor Membrane Component 1	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancers (Basel)	6. 最初と最後の頁 3265
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers13133265.	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 Yoshikawa Noritada, Oda Aya, Yamazaki Hiroki, Yamamoto Motohisa, Kuribara-Souta Akiko, Uehara Masaaki, Tanaka Hirotohi	4. 巻 -
2. 論文標題 The Influence of Glucocorticoid Receptor on Sex Differences of Gene Expression Profile in Skeletal Muscle	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Endocrine Research	6. 最初と最後の頁 1~15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/07435800.2021.1884874	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 Uehara Masaaki, Yamazaki Hiroki, Yoshikawa Noritada, Kuribara-Souta Akiko, Tanaka Hirotohi	4. 巻 67
2. 論文標題 Correlation among body composition and metabolic regulation in a male mouse model of Cushing's syndrome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Endocrine Journal	6. 最初と最後の頁 21~30
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1507/endocrj.EJ19-0205	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 Furuhashi Ryogo, Kabe Yasuaki, Kanai Ayaka, Sugiura Yuki, Tsugawa Hitoshi, Sugiyama Eiji, Hirai Miwa, Yamamoto Takehiro, Koike Ikko, Yoshikawa Noritada, Tanaka Hirotohi, Koseki Masahiro, Nakae Jun, Matsumoto Morio, Nakamura Masaya, Suematsu Makoto	4. 巻 3
2. 論文標題 Progesterone receptor membrane associated component 1 enhances obesity progression in mice by facilitating lipid accumulation in adipocytes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-020-01202-x	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 3件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Mizuki Yamada, Nodoka Ikegami, Hyunjun Gam, Yuriiko Nishikawa, Akira Ishikawa, Akiko Funaki, Kayoko Kamemoto, Tomoka Matsuda, Hazuki Ogata, Hirotooshi Tanaka, Hiroki Yamazaki, Mikako Sakamaki-Sunaga
2. 発表標題 Effects of acute aerobic exercise on the lipid profiles in transgender men
3. 学会等名 American College of Sports Medicine 69th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中廣壽、山崎広貴
2. 発表標題 グルココルチコイドとサルコペニア
3. 学会等名 第95回日本内分泌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山崎広貴、上原昌晃、栗原明子、山本元久、平川泰子、加部泰明、末松誠、田中廣壽
2. 発表標題 肥満の病態における骨格筋グルココルチコイド受容体シグナルの役割
3. 学会等名 第7回日本筋学学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山本元久、上原昌晃、山崎広貴、吉川賢忠、水島伊知郎、庄田宏文、吉藤元、川野充弘、高橋裕樹、藤尾圭志、田中廣壽
2. 発表標題 機械学習に基づくIgG4関連疾患の診断支援の試み
3. 学会等名 第65回日本リウマチ学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山田満月、池上和、甘賢俊、西川百合子、石川明良、舟喜晶子、亀本佳世子、松田知華、緒方はづき、田中廣壽、山崎広貴、須永美歌子
2. 発表標題 一過性有酸素運動がFTMの動脈ステイフネスに与える影響
3. 学会等名 第76回日本体力医学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中廣壽
2. 発表標題 運動とマイオカイン
3. 学会等名 第45回日本運動療学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中廣壽、山崎広貴
2. 発表標題 ステロイドホルモンの新たな作用 グルココルチコイドとエネルギー代謝 骨格筋グルココルチコイドレセプターに焦点をあてて
3. 学会等名 第93回日本内分泌学会（招待講演）
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
---------	---------