

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08908

研究課題名(和文) 脂肪組織の機能不全を制御する新規蛋白の同定と病態生理的意義

研究課題名(英文) Identification of a novel protein that regulates adipose tissue dysfunction and its pathophysiological significance

研究代表者

江口 潤 (Eguchi, Jun)

岡山大学・医歯薬学域・准教授

研究者番号：60616366

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)：メタボリックシンドロームの治療法の探索のため、RNF14の機能解析を行った。RNF14は、マウス前駆脂肪細胞3T3-L1の分化過程で発現が減少する。絶食状態のマウス脂肪組織で発現が上昇していた。さらに、培養脂肪細胞の検討において、RNF14は脂肪融解を促進させ、RNF14を全身性に欠損したマウスでは、脂肪組織量の増加や全身のインスリン抵抗性の悪化を認めた。RNF14は、メタボリックシンドロームに合併する種々の疾患の発症に関与していることが示唆される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

メタボリックシンドロームにおいては体内に脂肪組織が過剰に蓄積し、過剰に蓄積した脂肪組織中では、慢性的に炎症が起こっている。この慢性炎症が脂肪組織の繊維化を誘導し、全身のインスリン抵抗性、種々の代謝異常を引き起こす。脂肪組織の繊維化を軽減、もしくは治癒させることは、国民の健康維持、増進に有用である。そのため、脂肪組織の繊維化発症に関わる病態を解明する必要があるが、未だ不明な点が多い。本研究は、RNF14が脂肪組織の機能不全に関与している可能性を示した。メタボリックシンドロームの有効な治療薬開発の糸口になる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：In order to find a treatment for metabolic syndrome, we analyzed the function of RNF14, which is down-regulated during the differentiation of mouse progenitor adipocytes 3T3-L1 cells. The expression of RNF14 was upregulated in fasting mouse adipose tissue. Furthermore, in cultured adipocytes, RNF14 promotes lipolysis, and mice systemically deficient in RNF14 showed increased adipose tissue volume and worsened systemic insulin resistance, suggesting that RNF14 is involved in the development of various diseases associated with metabolic syndrome.

研究分野：糖尿病代謝学

キーワード：脂肪組織 メタボリックシンドローム インスリン抵抗性

1. 研究開始当初の背景

メタボリックシンドロームは 2 型糖尿病、動脈硬化性疾患、脂肪肝、悪性腫瘍、睡眠時無呼吸症候群、月経異常、認知機能障害などの様々な疾患の温床となる。メタボリックシンドロームとその合併症の克服は、我が国の国民の健康寿命を延伸させるために最も重要な解決すべき課題のうちの 1 つである。メタボリックシンドロームにおける内蔵脂肪の蓄積が過栄養により肥大した脂肪細胞が MCP-1 等のケモカイン分泌によりマクロファージを脂肪組織に誘導し、誘導されたマクロファージがさらに炎症性のシグナルを増幅することで脂肪組織内の炎症を引き起こす。さらに、この慢性炎症が脂肪組織の繊維化を誘導し、脂肪組織が機能不全に陥る。

体脂肪量は、食事によるエネルギー摂取と基礎代謝や運動などによるエネルギー消費のバランスで規定されている。白色脂肪細胞は余剰なエネルギーを細胞内にトリグリセリドとして蓄積し、飢餓状態の時にはグリセロールと遊離脂肪酸へ分解することにより栄養を供給する貯蔵庫である。また脂肪細胞の機能に関する研究は、白色脂肪組織が 1990 年代にレプチンをはじめとした生理活性物質を分泌する内分泌臓器として認識されて以来、目覚ましい進歩を遂げてきた。脂肪細胞の機能不全を改善する薬剤は、内臓脂肪蓄積型肥満を基盤として発症するメタボリックシンドロームの治療に対して有効であると考えられ、最近 20 年間で最も精力的に研究が進んできた領域のうちの 1 つである。しかしながら、脂肪細胞を標的とした治療薬は未だ臨床応用に至っていない。

2. 研究の目的

申請者は、脂肪組織のリモデリングの治療標的を探索するため、マウス多能性幹細胞の細胞株である C3H10T1/2 細胞にレンチウイルス shRNA ライブラリーを導入することにより脂肪細胞、筋細胞、軟骨細胞への分化を制御する運命決定因子を同定するスクリーニングを行い、Ring finger protein 14 (RNF14) を同定した。RNF14 は、マウス前駆脂肪細胞 3T3-L1 の分化過程で発現が減少する。絶食状態のマウス脂肪組織で発現が上昇しており、脂肪組織における重要な機能を有していることが強く示唆される。そのため、RNF14 は、脂肪組織の形成や機能に重要な役割を果たしていることが推測されるが、現在までに RNF14 の脂肪細胞に関する研究は行われていない。本研究において RNF14 が、培養脂肪細胞や遺伝子改変動物を用いた実験によりメタボリックシンドロームにおける脂肪組織の機能不全発症の病態に関与していること、

RNF14 の細胞内シグナルを同定し脂肪組織の機能不全を抑制するための創薬へと展開するという 2 点を本研究の目標とする

3. 研究の方法

レンチウイルスを用いて過剰発現とノックダウンの系を用い、脂肪細胞における RNF14 の糖取り込みに対する影響を検討した。次に、全身性 RNF14 欠損マウスに高脂肪食負荷を行い、全身の糖代謝、インスリン感受性、脂肪組織量、遺伝子発現を解析することにより、RNF14 のメタボリックシンドロームにおける病態生理学的意義、治療応用への可能性を検討した。

4. 研究成果

(1) 脂肪細胞における RNF14 の発現調節

RNF14 は野生型マウスを絶食状態で飼育すると、脂肪細胞で発現が劇的に上昇する。培養細胞の ChIP-seq の結果よりインスリンが発現抑制を起こすことが明らかになった。

(2)培養細胞における機能解析

成熟脂肪細胞(3T3-L1細胞)を用いて RNF14の過剰発現系と shRNAを用いたノックダウン系で検討する。レンチウイルスを用いて RNF14を過剰発現した 3T3-L1 脂肪細胞は、コントロールと比較しイソプレテノール刺激性の脂肪融解が有意に亢進していた。また、脂肪細胞へ分化後の 3T3-L1 脂肪細胞へレンチウイルスを用いて RNF14 に対する shRNA ベクターを遺伝子導入し RNF14 の発現を抑制すると、コントロールと比較しイソプレテノール刺激性の脂肪融解は有意に抑制されていた。

(3)全身性 RNF14 欠損マウスを用いた機能解析

CRISP/CAS のシステムを用いて、全身性 Rnf14 欠損マウスを作製した。全身性 Rnf14 欠損マウス(雄)は高脂肪食下でコントロールマウスと比較しインスリン感受性が低下していた。高脂肪食を 12 週間負荷した雄の全身性 Rnf14 欠損マウスは、野生型マウスと比較し、脂肪組織量の増加、食餌性肥満が増強しており、全身のインスリン抵抗性がより強く誘導されていた。イソプレテノール刺激による脂肪融解能では、全身性 Rnf14 欠損マウスで有意に抑制されていた。また、脂肪組織のマイクロアレイを行ったところ、全身性 Rnf14 欠損マウスにおいて脂肪融解やインスリン感受性に関連する遺伝子群の発現は低下していた。RNF14 は、前立腺癌細胞で発現が上昇していることから発見された転写因子であり、アンドロゲン受容体活性を正に調節するコアクチベーターとしてアンドロゲン受容体の標的遺伝子を制御することが報告されている。また、骨格筋において Wnt シグナルの カテニン経路依存的な転写活性を増強することも報告されている。アンドロゲン受容体シグナルと Wnt シグナルはともに脂肪組織の形成や機能に関与することが報告されている。RNF14 は、メタボリックシンドロームにおける脂肪組織の機能不全を改善する糸口となる可能性があり、そのメカニズムについて検討中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 5件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Zhang Dongxiao, Yamaguchi Satoshi, Zhang Xinhao, Yang Boxuan, Kurooka Naoko, Sugawara Ryosuke, Albuayjan Haya Hamed H., Nakatsuka Atsuko, Eguchi Jun, Hiyama Takeshi Y., Kamiya Atsunori, Wada Jun	4. 巻 12
2. 論文標題 Upregulation of Mir342 in Diet-Induced Obesity Mouse and the Hypothalamic Appetite Control	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Endocrinology	6. 最初と最後の頁 727915
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fendo.2021.727915	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 該当する

1. 著者名 Kurooka Naoko, Eguchi Jun, Murakami Kazutoshi, Kamei Shinji, Kikutsuji Toru, Sasaki Sakiko, Seki Akiho, Yamaguchi Satoshi, Nojima Ichiro, Watanabe Mayu, Higuchi Chigusa, Katayama Akihiro, Uchida Haruhito A., Nakatsuka Atsuko, Shikata Kenichi, Wada Jun	4. 巻 16
2. 論文標題 Circulating GPIIb/IIIa levels and microvascular complications in patients with type 2 diabetes: A cross-sectional study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Lipidology	6. 最初と最後の頁 237 ~ 245
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jacl.2022.01.006	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 該当する

1. 著者名 Matsuoka-Uchiyama Natsumi, Uchida Haruhito A., Okamoto Shugo, Onishi Yasuhiro, Katayama Katsuyoshi, Tsuchida-Nishiwaki Mariko, Takeuchi Hidemi, Takemoto Rika, Hada Yoshiko, Umebayashi Ryoko, Kurooka Naoko, Tsuji Kenji, Eguchi Jun, Nakajima Hirofumi, Shikata Kenichi, Wada Jun	4. 巻 2022
2. 論文標題 The Association of Postprandial Triglyceride Variability with Renal Dysfunction and Microalbuminuria in Patients with Type 2 Diabetic Mellitus: A Retrospective and Observational Study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Diabetes Research	6. 最初と最後の頁 1 ~ 12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1155/2022/3157841	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 該当する

1. 著者名 Yamaguchi Satoshi, Zhang Dongxiao, Katayama Akihiro, Kurooka Naoko, Sugawara Ryosuke, Albuayjan Haya Hamed Hassan, Nakatsuka Atsuko, Eguchi Jun, Wada Jun	4. 巻 12
2. 論文標題 Adipocyte-Specific Inhibition of Mir221/222 Ameliorates Diet-Induced Obesity Through Targeting Ddit4	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Endocrinology	6. 最初と最後の頁 3157841
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fendo.2021.750261	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 該当する

1. 著者名 Fujiwara Noriko, Watanabe Mayu, Katayama Akihiro, Noda Yohei, Eguchi Jun, Kataoka Hitomi, Kagawa Shunsuke, Wada Jun	4. 巻 9
2. 論文標題 Longitudinal observation of insulin secretory ability before and after the onset of immune checkpoint inhibitor induced diabetes mellitus: A report of two cases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Case Reports	6. 最初と最後の頁 e04574
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ccr3.4574	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 該当する

1. 著者名 Nojima Ichiro, Eikawa Shingo, Tomonobu Nahoko, Hada Yoshiko, Kajitani Nobuo, Teshigawara Sanae, Miyamoto Satoshi, Tone Atsuhito, Uchida Haruhito A., Nakatsuka Atsuko, Eguchi Jun, Shikata Kenichi, Udono Heiichiro, Wada Jun	4. 巻 10
2. 論文標題 Dysfunction of CD8+PD-1+T cells in type 2 diabetes caused by the impairment of metabolism-immune axis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 14928
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-71946-3	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 Nunoue Tomokazu, Yamaguchi Satoshi, Teshigawara Sanae, Katayama Akihiro, Nakatsuka Atsuko, Eguchi Jun, Niki Toshiro, Wada Jun	4. 巻 11
2. 論文標題 Lgals9 deficiency ameliorates obesity by modulating redox state of PRDX2	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5991
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-85080-1	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 Tenta M, Eguchi J, Wada J.	4. 巻 3
2. 論文標題 Roles of Transmembrane Protein 97 (TMEM97) in Adipose Tissue and Skeletal Muscle	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Acta Med Okayama	6. 最初と最後の頁 235-245
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18926/AMO/63717.	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
---------------------------	-----------------------	----

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