

令和 4 年 6 月 24 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17495

研究課題名(和文)細胞外弾性線維による臓器連関を介した代謝制御機構

研究課題名(英文)extracellular elastic fiber regulate metabolism via interorgan

研究代表者

奥山 朋子(OKUYAMA, Tomoko)

横浜市立大学・医学部・助教

研究者番号：90806928

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):細胞外弾性線維形成に必須の分泌蛋白Fibulin-5(Fbln5)を介したエネルギー代謝制御機構について解析した。Fbln5欠損マウスはインスリン感受性の亢進および肥満抑制を示し、高脂肪食負荷時には脂肪肝の形成が顕著に抑制された。弾性線維は皮膚や血管に豊富に存在することから、皮膚や血管を介した代謝制御について検討した。Fbln5欠損により皮脂腺が萎縮し、寒冷刺激への易感受性を呈したことから、皮膚における表現系の寄与が示唆された。またFbln5欠損マウスでは血管を介した組織へのインスリン移行性が亢進しており、臓器連関を介した全身の代謝制御が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では細胞外弾性線維形成に必須の分泌蛋白Fibulin-5を介したエネルギー代謝制御機構について解析し、細胞外弾性線維とインスリン感受性制御や肥満の病態の関与を同定した。その詳細な分子機構の解明は、メタボリックシンドロームの新たな病態解明や治療開発に有用である。組織周辺環境による、臓器連関を介した代謝制御機構について提唱する。

研究成果の概要(英文):Fibulin5 (Fbln5), a matricellular secretory protein, is essential for the development of elastic fibers. We investigated Fbln5 knockout (Fbln5KO) mice fed a standard chow (SC) or a high fat (HF) diet to evaluate how extracellular elastic fibers regulate systemic metabolism. Fbln5KO mice showed enhanced insulin sensitivity and smaller body weight gain than wild-type mouse, and were protected against HF-induced hepatic steatosis. Moreover, Fbln5KO mice showed reduced cold tolerance and enhanced insulin transition via vasculature. Fbln5 deletion caused sebaceous glands atrophy in the skin in both SC-fed and HF-fed mice. Thus, extracellular matrix protein Fbln5 might regulate systemic metabolism via multiple organ interaction.

研究分野:代謝 糖尿病

キーワード:細胞外弾性線維 エネルギー代謝 糖尿病 肥満

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

細胞外基質や組織周辺環境と糖エネルギー代謝との関連については不明な点も多い。Fibulin-5 (Fbln5) は弾性線維形成に必須の細胞外マトリックス分子であるが、我々は膝島におけるグルコキナーゼ活性化薬の標的分子として Fbln5 を同定し報告した (Okuyama T. et al. Sci Rep. 7(1):2364, 2017)ことから、この分子に着目し、Fbln5 欠損マウスを用いて糖代謝に関する表現型解析を行った。

Fbln5 欠損マウスは弛緩性皮膚や肛門脱、肺気腫、動脈硬化などの表現型を呈し、ヒトにおいては皮膚弛緩症や Ehlers-Danlos 症候群の病態と関連している。また Fbln5 は細胞増殖や細胞浸潤における機能性を有し、腫瘍性疾患・癌への関与が多数報告されている。一方で、弾性線維や Fbln5 の糖代謝や肥満の病態における役割は不明である。我々は Fbln5 欠損マウスを入手しその表現型を解析したところ、体重非依存性のインスリン感受性の亢進と体重増加の抑制、高脂肪食誘導性の脂肪肝および脂肪細胞の肥大化の抑制などを呈し、Fbln5 の代謝制御における重要性が示唆された。

### 2. 研究の目的

細胞外基質は生体内において細胞骨格形成・組織保持の役割を果たすのみならず、細胞外-細胞内シグナル、細胞間-細胞間シグナル、細胞接着等に関与することで様々な機能性を持つことが知られている。Fbln5 欠損マウスは全身におけるインスリン感受性の亢進と肥満抵抗性、脂肪肝の抑制など多面的な代謝改善作用を呈し、これまでの検討から、我々は Fbln5 が血管・皮膚といった臓器を介した臓器連関から全身のインスリン感受性やエネルギー代謝を制御している可能性を見出している。本研究では弾性線維を介したインスリン感受性およびエネルギー代謝の制御機構を解明することを目的とする

### 3. 研究の方法

#### (1) Fbln5 欠損マウスの表現型解析

これまでに我々は Fbln5 欠損マウスを用いた解析により、体重非依存性のインスリン感受性の亢進および肥満抑制、各臓器における脂肪蓄積の抑制を見出している。インスリン抵抗性の責任臓器を解析するグルコースクランプにより、Fbln5 欠損マウスにおける全身のインスリン感受性亢進が示唆された。Fbln5 欠損マウスでは脂肪肝の抑制が顕著であったが、初代培養肝細胞や Fbln5 発現アデノウイルスを用いた肝臓での *in vitro*・*in vivo* における Fbln5 の過剰発現による検討から、Fbln5 欠損による肝臓におけるインスリン感受性の改善や脂肪肝の抑制は肝細胞由来ではなく、臓器連関を介すると考えられた。一方、皮膚において Fbln5 欠損マウスでは野生型マウスに比較し脱毛が目立ち、皮脂腺の萎縮を認めた。高脂肪食負荷により皮膚 Fbln5 の有意な発現上昇を認め、皮膚における SCD1 や DGAT、PLA2 などの脂肪酸合成関連分子の発現誘導を認めたが、Fbln5 欠損によりこの変化は消失した。これらの知見より、Fbln5 を介した皮膚における脂質代謝の変化が示唆された。肝臓のマイクロアレイやプロテオミクスによる網羅的解析を行い、Fbln5 欠損に伴う臓器連関を介した肝臓や脂肪の代謝経路の変化を評価していく。また Fbln5 欠損マウスの皮膚における脂肪酸組成の測定を行った。

#### (2) Fbln5 の各臓器における代謝制御機構の解析

Fbln5-floxed マウスおよび KRT14-Cre、Alb-Cre、Adipoq-Cre、Ins1-Cre マウスを用いて各臓器特異的 Fbln5 欠損マウス (皮膚、肝細胞、脂肪細胞、膵β細胞特異的) を樹立し、インスリン負荷試験、耐糖能、体重推移、肝臓や脂肪組織における脂肪蓄積の評価を行った。

#### (3) 皮膚を介した体温調節・エネルギー代謝制御機構の解析

通常食・高脂肪食いずれにおいても Fbln5 欠損による皮脂腺の萎縮と脱毛の所見を認めたこと、Fbln5 欠損による寒冷刺激への感受性亢進の所見より、Fbln5 欠損マウスにおける皮膚を介した熱放散の亢進が示唆された。今後 Fbln5 欠損マウスの酸素消費量の測定や、30 °C の温室飼育下での体重変化・インスリン感受性の変化などを解析することで、皮膚の表現型変化による代謝制御への作用を検証した。

### 4. 研究成果

#### (1) Fbln5 欠損マウスの表現型解析

Fbln5 欠損マウスおよび野生型マウスの肝臓のマイクロアレイ遺伝子解析を施行し、Fbln5 欠損による肝臓における脂質代謝の改善や、ミトコンドリア機能の亢進が示唆された。Fbln5 欠損マウスにおけるインスリン感受性改善やエネルギー代謝亢進とも矛盾しない結果と考えられ、

Fbln5 を介した臓器連関や細胞外-細胞内シグナルを介した代謝制御機構が示唆された。また Fbln5 欠損マウスおよび野生型マウスの皮膚脂肪酸組成の解析を行ったところ、脂肪酸組成に顕著な差は認めなかったものの、皮膚における脂質含量と熱放散やエネルギー代謝との関連が報告されており、今後脂肪酸組成のみならず、脂質含量についても解析を検討していく。

#### (2) Fbln5 の各臓器における代謝制御機構の解析

各組織特異的 Fbln5 欠損マウスを樹立し、その表現型解析を行った。

肝細胞特異的 Fbln5 欠損マウス、脂肪細胞特異的 Fbln5 欠損マウス、皮膚（表皮）特異的 Fbln5 欠損マウスのいずれも全身における Fbln5 欠損マウスの表現型を再現せず、体重やインスリン感受性、耐糖能は各コントロールマウスと同等であった。

膵 細胞特異的 Fbln5 欠損マウスはわずかな耐糖能異常と膵 細胞増殖の低下を呈した。これらの結果から、Fbln5 は膵 細胞機能に重要である可能性が示唆されるとともに、肝臓や脂肪、表皮における Fbln5 はインスリン感受性の制御に直接的には寄与しておらず、臓器連関を介して全身のインスリン感受性や肝脂肪蓄積が制御されていると考えられた。今後さらに他の組織特異的 Fbln5 欠損マウスも樹立し、各臓器における Fbln5 を介した代謝制御の分子機構を解析していく。

#### (3) 皮膚を介した体温調節・エネルギー代謝制御機構の解析

通常食負荷時の Fbln5 欠損マウスの酸素消費量をメタボリックケージを用いて解析したところ、野生型マウスと同等であったが、同時に Fbln5 欠損マウスでは活動量が有意に低下していた。このことから、Fbln5 欠損によるエネルギー代謝の変化が示唆された。

そこで体表からの熱放散の影響を排除するため 30 °C の温室飼育下での体重変化・インスリン感受性の変化などを解析したところ、通常食下・高脂肪食下のいずれにおいてもインスリン感受性、耐糖能はコントロールマウスと同等であった。一方で Fbln5 欠損による体重低下は残存しており、熱放散が完全には排除できていなかった可能性も考えられた。今後 Fbln5 欠損によるエネルギー代謝の変化については、さらなる検証を進めていく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 奥山朋子、白川 純、寺内康夫
2. 発表標題 細胞外弾性線維形成に関わる 蛋白を介した糖代謝制御機構の解明
3. 学会等名 第94回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 奥山朋子、白川 純、寺内康夫
2. 発表標題 細胞外マトリックスによる糖代謝制御機構の解明
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術総会
4. 発表年 2021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
---------	---------