

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 15 日現在

機関番号：13201

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21790867

研究課題名（和文）SIRT1 活性化によるインスリン抵抗性改善機構に関する研究

研究課題名（英文）Involvement of SIRT1 activation in improving insulin sensitivity

研究代表者

小清水 由紀子（KOSHIMIZU YUKIKO）

富山大学・大学院医学薬学研究部（医学）・助教

研究者番号：30511828

研究成果の概要（和文）：

SIRT1 活性化薬(SIRT1720)を高脂肪食マウスに投与すると、白色脂肪組織における炎症シグナルの一つである、JNK 経路の活性化が抑制された。単球/マクロファージ特異的 SIRT1 欠損マウスを作成、高脂肪食負荷したところ、白色脂肪組織において炎症性サイトカインや低酸素に関連した遺伝子の発現が増加していた。これらの結果より、マクロファージにおける SIRT1 の活性化は、肥満モデルの白色脂肪組織における炎症反応に対し抑制的に作用していることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

SIRT1720 treatment suppressed JNK signaling pathway, activated in white adipose tissue of high fat-fed mice. We constructed monocyte/macrophage specific SIRT1 knock out mice and fed high fat diet. In white adipose tissue of high fat-fed monocyte/macrophage specific SIRT1 knock out mice, inflammatory and hypoxia related genes were up-regulated compared with control mice. In conclusion, SIRT1 activation in macrophage was suggested to suppress inflammatory reaction in white adipose tissue of obese model.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：糖尿病、脂質、老化

1. 研究開始当初の背景

(1) SIRT1 は NAD 依存性に転写因子や酵素を脱アセチル化する。また、カロリー制限で代謝が改善し、寿命が延長することは広く知られるが、その一部は SIRT1 の活性化を介していると報告されている。代謝の分野で

は、SIRT1 は脂肪細胞の分化を抑制し、肝で糖新生を亢進させ、骨格筋で脂肪酸酸化を亢進させることが報告されている。しかしこれらの実験は、おもに培養細胞を用いて行われたものであり、代謝分野での個体における各

臓器の SIRT1 の役割について明確にした報告は少ない。

(2) SIRT1 activator として知られる resveratrol (RSV)は骨格筋の脂肪酸酸化を亢進させ、肝臓のミトコンドリア関連遺伝子の発現を上昇させることによって耐糖能を改善すると報告されている。しかし、RSVは SIRT1 活性化以外の非特異的な作用もあるといわれており、より特異的な活性化薬を用いた解析が必要である。

(3) 既報にある新規の SIRT1 活性化薬 SRT1720 を合成した。SRT 1720 で前処置した培養単球系細胞である RAW cell を LPS 刺激すると、TNF α , IL-1 β , iNOS など炎症関連遺伝子の発現が低下した。このことから、肥満に伴い脂肪組織に集積するマクロファージなどの炎症細胞の量、あるいは性質(サイトカイン産生能など)を変化させる可能性があると考えた。

(4) 非肥満マウスと肥満マウスの脂肪組織には異なる性質のマクロファージが集積することが報告されている。非肥満マウスの脂肪組織には Th2 サイトカイン (IL-4, IL-13 など) または PPAR γ シグナルを介して分化が促進される M2 マクロファージが多く集積し、肥満マウスの脂肪組織では Th1 (IFN γ , IL-1 β , LPS) 刺激によって分化が促進される M1 マクロファージが優位に増加している。M1 マクロファージは TNF α や IL-6 などの炎症性サイトカインを産生し、M2 マクロファージは IL-10 や arginase1 を産生する。

2. 研究の目的

SIRT1 の活性化がインスリン抵抗性を改善するメカニズムについて、特に肥満動物の脂肪組織に集積するマクロファージ (M1/M2) への影響を明らかにするために、本研究を立案した。

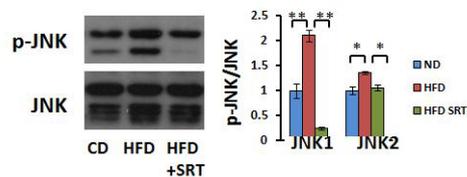
3. 研究の方法

(1) SIRT1 活性化薬である SRT1720 を本学薬学部薬品製造学教室との共同研究で合成し、実験に使用した。SRT 1720 を食事性肥満マウスに投与し、耐糖能を評価し、脂肪組織の炎症細胞浸潤などに及ぼす影響を評価した。

(2) M ϕ の SIRT1 が全身の代謝制御に与える影響について明らかにする目的で、Cre-LoxP システムを用いた単球/マクロファージ特異的 SIRT1 欠損マウス (Mye-SIRT1 KO マウス) を作成、解析した。対照マウス、Mye-SIRT1 KO マウスに対し通常食または高脂肪食 (HFD) を負荷した後、耐糖能、脂肪組織の炎症および低酸素関連遺伝子の発現、ATM (脂肪組織マクロファージ) の極性について解析を行った。また、マウス骨髄由来のマクロファージ (BMDM) を用い、低酸素刺激に対する炎症反応に与える SIRT1 欠損の影響について検討を行った。

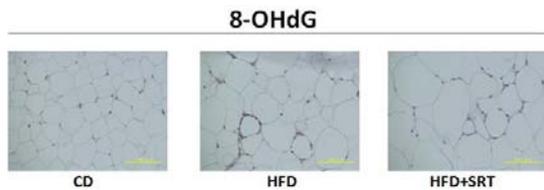
4. 研究成果

(1) SRT1720 を高脂肪食 (HFD) マウスに投与すると、摂餌量と体重に有意差はなかったが、インスリン負荷試験や糖負荷試験において糖代謝は有意に改善した。白色脂肪組織における代表的な炎症シグナルである JNK 経路の活性化は、SRT1720 投与によって抑制されていた。同時に、HFD マウスで低下していた IRS-1 のタンパク量は SRT1720 投与によって回復した。



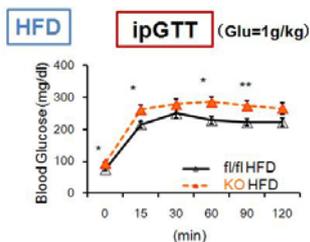
脂肪組織における酸化ストレスマーカーを解析した。白色脂肪組織の8-OHdG抗体による免

疫染色、hemeoxygenase-1の遺伝子発現ではHFDマウスの白色脂肪組織で酸化ストレスが増強していたが、SRT1720投与によって軽減されていた。また、SRT1720投与によって、白色脂肪組織でミトコンドリア関連遺伝子と抗酸化遺伝子の発現が増加していた。

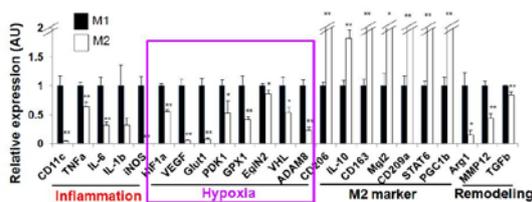


これらの結果から、SIRT1の活性化が肥満の白色脂肪組織において亢進している酸化ストレスを軽減することで、糖代謝の改善に寄与する可能性が示唆された。

(2) Mye-SIRT1 KO マウスは対照マウスに比べて体重と摂餌量は変わらなかった。HFD6 週間負荷時、Mye-SIRT1 KO マウスは対照マウスと比較し、糖負荷試験における耐糖能の悪化と高インスリン血症を認めた。



精巣上体脂肪組織では、ATM の数、主にM1ATM により形成される Crown-like Structures (CLS)の数が増加傾向を示し、TNF α や IL-1 β などの炎症性サイトカインやHIF1 α など低酸素に関連した遺伝子発現が上昇していた。



低酸素プローブであるピモニダゾールを投

与し HFD 負荷マウスの脂肪組織の低酸素領域を調べると、CLS 領域に集積していた。フローサイトメトリーを用いた検討では、高脂肪食下の Mye-SIRT1 KO マウスの脂肪組織の M1-ATM は、対照マウスの M1-ATM と比較してピモニダゾールをより多く取り込んでいた。

両マウスから採取した BMDM を *in vitro* で 1%低酸素刺激したところ、対照マウス由来の BMDM と比べ Mye-SIRT1 KO マウス由来 BMDM では、IL-1 β や iNOS など炎症関連遺伝子および低酸素関連遺伝子の発現が増強していた。TNF α や MCP-1 などの別の炎症関連遺伝子は 1%低酸素刺激によって発現が誘導されず、SIRT1 欠損による増強効果も認めなかった。すなわち、*in vitro* において SIRT1 は低酸素依存性の炎症反応に対し抑制的に作用している可能性がある、と考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 6 件)

① 瀧川 章子, マクロファージの SIRT1 は低酸素依存性の炎症反応およびインスリン抵抗性を抑制する, 日本糖尿病肥満動物学会, 2012年2月17日, 名古屋

② 金谷 由紀子, The Effect of SIRT1 Activator on Inflammation and Oxidative Stress in White Adipose Tissue of High Fat-fed Mice, ADA 70th scientific sessions, 2010年6月27日, Orlando

③ 金谷 由紀子, SIRT1 の活性化が肥満マウスの白色脂肪組織の炎症と酸化ストレスに与える影響, 第53回日本糖尿病学会年次学術集会, 2010年5月27日, 岡山

④金谷由紀子, SIRT1の活性化が肥満マウスの白色脂肪組織の炎症と酸化ストレスに与える影響についての検討, 第30回日本肥満学会, 2009.10.9-10, 浜松

⑤ 金谷由紀子, The Effect of SIRT1 Activator on Inflammation and Oxidative Stress in White Adipose Tissue of High Fat-fed Mice , ADA 69th scientific sessions, 2009年6月7日, NEW ORLEANS, LA

⑥金谷由紀子, SIRT1の活性化が肥満マウスの白色脂肪組織の炎症と酸化ストレスに与える影響についての検討, 第52回日本糖尿病学会年次学術集会, 2009.5.21~24, 大阪

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小清水 由紀子 (KOSHIMIZU YUKIKO)
富山大学・大学院医学薬学研究部 (医学)・
助教
研究者番号 : 30511828

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :