

令和 6 年 6 月 2 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08532

研究課題名（和文）褐色脂肪組織再生に関する臓器間連関因子の分子機序の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the Molecular Mechanisms of Interorgan Communication Factors Involved in Brown Adipose Tissue Regeneration

研究代表者

阪口 雅司（Sakaguchi, Masaji）

熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・助教

研究者番号：90625774

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）：申請者は、新たな褐色脂肪活性化因子の候補として肝臓から分泌されるSerine protease inhibitor A1 (SerpinA1)を見出した。肝臓特異的SerpinA1過剰発現Tgマウスでは、耐糖能改善及び褐色脂肪組織のUCP1の発現上昇を認め、寒冷刺激下での熱産生が増加した。さらに、SerpinA1KOマウスを作製すると、耐糖能及びインスリン抵抗性の増悪や酸素消費量の低下、耐寒能の低下が認められた。これらの解析結果から、SerpinA1は、褐色脂肪のミトコンドリア機能を活性化するヘパトカインの一種であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

SerpinA1は、糖代謝の改善に寄与する新しい臓器連関因子として、糖尿病治療の新規分子標的として期待できる。SerpinA1の作用機序と、ヒトにおけるSerpinA1の役割が明らかになることで、今後の臨床応用への展望が開ける可能性がある。本研究における動物モデルで得られた知見を基に、今後、SerpinA1の詳細な作用機序について明らかにしていきたい。

研究成果の概要（英文）：The applicants have identified Serine protease inhibitor A1 (SerpinA1), secreted from the liver, as a candidate for a new brown fat activation factor. Liver-specific SerpinA1 overexpressing transgenic (Tg) mice, improved glucose tolerance and increased expression of UCP1 in brown adipose tissue, and increased heat production under cold stimulation. Furthermore, SerpinA1 knockout (KO) mice created using CRISPR/Cas9 showed glucose intolerance, increased insulin resistance, decreased oxygen consumption, and cold intolerance. These analyses suggest that SerpinA1 is a hepatokine that activates the mitochondrial function in brown adipose tissue.

研究分野：糖尿病・代謝内分泌学

キーワード：糖尿病 褐色脂肪組織 肥満 インスリン抵抗性 ベージュ化 ミトコンドリア

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脂肪組織には脂質を蓄えてエネルギーを貯蔵する白色脂肪と、エネルギーを消費して体温を維持する働きをする褐色脂肪に大別される。また、ヒト成人においても褐色脂肪組織の存在の重要性が示され、その活性化は肥満やインスリン抵抗性を抑制することが知られ、糖尿病に対して予防的効果をもつと注目されている。申請者は、成熟マウスで脂肪特異的にインスリン、IGF1の両受容体KOをタモキシフェンで誘導すると脂肪組織が消失してメタボリックシンドロームを起こすが、長期間観察すると新たに褐色脂肪組織が回復し、代謝が改善することを観察している。これらのことから、褐色脂肪細胞の活性化のメカニズムの解明に取り組んできた。脂肪組織特異的インスリン受容体 (IR) 及びIGF1受容体欠損誘導DKOマウスの褐色脂肪組織回復に関わる、血清の網羅的プロテオミクス解析から、褐色脂肪活性化因子の候補として(Serine protease inhibitor A1 (Serpina1))を見出した。

2. 研究の目的

Serpina1 が褐色脂肪細胞に及ぼす作用を解析し、糖代謝や全身エネルギー代謝に与える影響を検証する。

3. 研究の方法

1) Serpina1 の肝臓特異的過剰発現トランスジェニックマウスの解析

幼年時から、若年時、老年時における褐色脂肪細胞分化がどのように変化するかを調べる。その指標として *Adiponectin*、*Leptin*、*PPAR γ* 、*PGC1 α* 、*UCP1* の mRNA 発現を確認する。褐色脂肪細胞のミトコンドリアを単離し、細胞外フラックスアナライザーでミトコンドリアの機能解析を行い、Serpina1 がどのような効果をもたらすかを明らかにする。マウスの熱産生、耐寒能、耐糖能、インスリン抵抗性を評価する。

2) Serpina1 ノックアウトマウスの作製

マウスでは染色体の Serpina1 ファミリーゲノム領域に位置し5つの paralogs が存在する。全長20万 bp 以上の広範な領域に存在するため、本研究では Serpina1-KO マウスの作製には、Crispr Cas9 による実験系を用いる。

3) Serpina1 ノックアウトマウスの解析

Serpina1 欠損が組織特異的に行われていることを mRNA 及びタンパクレベルで確認する。褐色脂肪細胞分化の指標として *Adiponectin*、*Leptin*、*PPAR γ* 、*PGC1 α* 、*UCP1* の mRNA 発現を確認する。Serpina1 KO マウスの熱産生、耐寒能、耐糖能、インスリン抵抗性を調べ、Serpina1 の機能を評価する。

4 . 研究成果

申請者は、脂肪組織特異的インスリン受容体 (IR) 及びIGF1受容体欠損誘導DKOマウスの褐色脂肪組織回復に関わる血清の網羅的プロテオミクス解析から、褐色脂肪活性化因子の候補としてSerine protease inhibitor A1 (Serpina1)を見出した。

Serpina1 は *in vitro* でマウス褐色脂肪前駆細胞の増殖を誘導する作用を示すことから、増殖因子としての働きをすることを確認した。また、マウス成熟褐色脂肪細胞を Serpina1 で刺激すると、褐色脂肪の熱産生に関わる Uncoupled protein 1 (UCP1)の発現上昇を誘導し、同時に細胞内のミトコンドリアの活性化を促した。さらに、興味深いことに Serpina1 の刺激によって、白色脂肪細胞においても UCP1 の発現が上昇し、白色脂肪細胞から褐色脂肪への転換が誘導されることが示唆された。次いで、マウスにおける Serpina1 の発現が栄養環境や温度変化などの代謝負荷によって変動する性質を有するのかを調べた。高脂肪食負荷では、マウス肝臓の Serpina1 発現が有意に低下した。寒冷刺激ではマウス肝臓の Serpina1 発現が上昇し、マウスの褐色脂肪組織の UCP1 の発現と正の相関を認めた。Serpina1 は、褐色脂肪のミトコンドリア機能の活性化をもたらすヘパトカインの一種である可能性が示唆された。

In vivo の作用について Serpina1Tg マウスを解析すると、耐糖能改善及び褐色脂肪組織の UCP1 の発現上昇が認められ、寒冷刺激下での熱産生が上昇することが確認された。興味深いことに、白色脂肪に対しても UCP1 発現が上昇し、ベージュ化を促すことを見出した。さらに、Crispr Cas9 を用いて Serpina1KO マウスを作製すると、耐糖能及びインスリン抵抗性の増悪、酸素消費量の低下、耐寒能の低下を認めた。また、褐色脂肪組織の UCP1 の発現低下がみられ、高脂肪食摂取下では肥満傾向を示した。これらの研究成果より、Serpina1 は、糖代謝の改善に寄与する新しい臓器連関因子として、2 型糖尿病治療への展開が期待される。

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 4件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Sakaguchi M	4. 巻 15
2. 論文標題 Adipose tissue plasticity and insulin signaling in the pathogenesis of type 2 diabetes.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Diabetology International	6. 最初と最後の頁 28-33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13340-023-00676-4.	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 Sakaguchi M, Okagawa S, Okubo Y, Otsuka Y, Fukuda K, Igata M, Kondo T, Sato Y, Yoshizawa T, Fukuda T, Yamagata K, Cai W, Tseng YH, Sakaguchi N, Kahn CR, Araki E.	4. 巻 13
2. 論文標題 Phosphatase protector alpha4 (4) is involved in adipocyte maintenance and mitochondrial homeostasis through regulation of insulin signaling.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 6092
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-022-33842-4.	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 Bradao BB, Sakaguchi M, Batista MT, Hu J, Schepmoes AA, BonDurant L, Moreau F, Qian WJ, Kulkanri RN, Kahn CR	4. 巻 64
2. 論文標題 Apolipoprotein C3 and Circulating Mediators of Preadipocyte Proliferation in States of Lipodystrophy.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular Metabolism	6. 最初と最後の頁 101572
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.molmet.2022.101572.	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 Araki E, Sakaguchi M, Fukuda K, Kondo T.	4. 巻 13
2. 論文標題 Potential of a glucagon-like peptide-1 receptor/glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor/glucagon receptor triagonist for the treatment of obesity and type 2 diabetes.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 1958
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13896.	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 Igata M, Yagi Y, Hanatani S, Sakaguchi M, Ishii N, Yoshinaga K, Kawashima J, Motoshima H, Araki E.	4. 巻 12
2. 論文標題 Rapid and dramatic glucose-lowering effect of bromocriptine in an inadequately controlled type 2 diabetes patient with prolactinoma.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Diabetes Investig.	6. 最初と最後の頁 668-671
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13369.	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 Okawa ER, Gupta MK, Kahraman S, Goli P, Sakaguchi M, Hu J, Duan K, Slipp B, Lennerz JK, Kulkarni RN.	4. 巻 47
2. 論文標題 Essential roles of insulin and IGF-1 receptors during embryonic lineage development.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Metabolism	6. 最初と最後の頁 101164
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.molmet.2021.101164.	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 Kondo T, Kitano S, Miyakawa N, Watanabe T, Goto R, Sato M, Hanatani S, Sakaguchi M, Igata M, Kawashima J, Motoshima H, Matsumura T, Araki E.	4. 巻 60
2. 論文標題 The Amount of Residual Incretin Regulates the Pancreatic β -cell Function and Glucose Homeostasis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Intern Med.	6. 最初と最後の頁 1433-1442
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.6026-20.	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 Kondo T, Miyakawa N, Kitano S, Watanabe T, Goto R, Suico MA, Sato M, Takaki Y, Sakaguchi M, Igata M, Kawashima J, Motoshima H, Matsumura T, Kai H, Araki E.	4. 巻 10
2. 論文標題 Activation of heat shock response improves biomarkers of NAFLD in patients with metabolic diseases.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Endocr Connect.	6. 最初と最後の頁 521-533
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1530/EC-21-0084.	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13件（うち招待講演 11件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 阪口雅司
2. 発表標題 2型糖尿病とその合併症の病態の分子生物学的解析と新規治療標的の同定
3. 学会等名 第66回日本糖尿病学会年次学術集会（招待講演）
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 阪口雅司, 岡川章太, 大久保侑馬, 竹熊由理, 福田一起, 井形元維, 近藤龍也, 荒木栄一
2. 発表標題 Targeting adipose tissue insulin resistance to treat metabolic syndrome
3. 学会等名 第66回日本糖尿病学会年次学術集会（招待講演）
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 阪口雅司
2. 発表標題 肥満におけるインスリン抵抗性発生病序の解明と治療標的の同定
3. 学会等名 第44回日本肥満学会・第41回日本肥満症治療学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 阪口雅司, 岡川章太, 大久保侑馬, 竹熊由理, 福田一起, 井形元維, 近藤龍也, 荒木栄一
2. 発表標題 褐色脂肪組織を活性化する因子と代謝制御メカニズム
3. 学会等名 第44回日本肥満学会・第41回日本肥満症治療学会学術集会 シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 14. 阪口雅司
2. 発表標題 褐色脂肪組織活性化による肥満糖尿病治療戦略
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会九州地方会（招待講演）
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 19. 阪口雅司
2. 発表標題 メタボリック症候群の治療標的としての脂肪細胞
3. 学会等名 第58回糖尿病学シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 阪口雅司
2. 発表標題 発生・再生を活用した糖尿病及び糖尿病合併症の新規治療開発へのチャレンジ
3. 学会等名 第72回日本体質医学会総会（招待講演）
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 阪口雅司, 岡川章太, 大久保侑馬, 荒木栄一
2. 発表標題 脂肪組織のインスリン抵抗性改善を目指して
3. 学会等名 第65回日本糖尿病学会年次学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 2. Sakaguchi M, Okagawa S, Okubo Y, Fukuda K, Igata M, Kawashima J, Kondo T, Araki E.
2. 発表標題 Regulatory Loop of IR Signaling for Adipocyte Mitochondrial Homeostasis
3. 学会等名 The 81th ADA scientific meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 Sakaguchi M, Okagawa S, Okubo Y, Fukuda K, Igata M, Kondo T, Araki E.
2. 発表標題 Regulatory loop of IR signaling is critical for adipocyte dynamics and mitochondrial homeostasis.
3. 学会等名 57th Annual Meetng of the European Association of the Study of Diabetes. (国際学会)
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 阪口雅司, 岡川章太, 大久保侑馬, 福田一起, 井形元維, 河島淳司, 近藤龍也, 荒木栄一
2. 発表標題 生体メタボリズム恒常性に関わる脂肪組織の維持・再生の解析.
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 阪口雅司
2. 発表標題 インスリン作用 ～今後100年を見据えて～.
3. 学会等名 日本糖尿病学会年次学術集会 インスリン発見100周年記念シンポジウム. (招待講演)
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 阪口雅司
2. 発表標題 脂肪組織の機能回復とその制御機構 -糖尿病予防・改善を目指して-
3. 学会等名 第39回日本肥満症治療学会学術集会.(招待講演)
4. 発表年 2021年～2022年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 阪口雅司	4. 発行年 2024年
2. 出版社 日本糖尿病学会	5. 総ページ数 1
3. 書名 糖尿病	

1. 著者名 1. 阪口雅司, 大久保侑馬, 岡川章太, 荒木栄一	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医歯薬出版株式会社	5. 総ページ数 4
3. 書名 成熟脂肪組織および脂肪前駆細胞におけるインスリン/IGF1 シグナルの役割. 医学の歩み	

1. 著者名 阪口雅司, 岡川章太	4. 発行年 2021年
2. 出版社 南江堂	5. 総ページ数 4
3. 書名 インスリン作用伝達に関する新規転写因子FoxK1/FoxK2の役割. 糖尿病最新の治療. 2022-2024.	

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 脂肪細胞活性化剤	発明者 阪口雅司, 荒木栄一	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-105460	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 脂肪細胞活性化剤	発明者 阪口雅司、荒木栄一	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2023/024246	出願年 2023年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔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
研究協力者	岡川 章太 (Okagawa Shota)		

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