

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：14603

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16349

研究課題名（和文）肝臓筋肉連関による糖投与後代謝制御及び肥満による制御障害のトランスオミクス解析

研究課題名（英文）Transomics analysis of glucose-responsive metabolic regulation through crosstalk between the liver and muscle and its alterations associated with obesity

研究代表者

小鍛治 俊也 (Kokaji, Toshiya)

奈良先端科学技術大学院大学・データ駆動型サイエンス創造センター・助教

研究者番号：80822551

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、臓器間代謝サイクルの肥満における機能不全メカニズムを理解するために、主要な糖代謝器官である肝臓と筋肉の代謝制御ネットワークを野生型マウスと肥満モデルマウスそれぞれで構築し、それらを統合した大規模な肝臓筋肉連関ネットワークの構築を研究目的としました。結果、新たにグルコース投与時の筋肉の大規模ネットワークを構築し、肝臓ネットワークとの比較及び統合が可能となりました。これにより肥満モデルマウスの筋肉においては代謝物自身による代謝制御が働かず、代わりに遺伝子発現による制御が行われていることを発見しました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肥満により肝臓や筋肉に脂肪が蓄積すると、糖や脂質の代謝制御がうまくいかず、血液中のグルコース濃度や脂質濃度が異常に高まり、動脈硬化など様々な疾患の原因となります。本研究では、グルコース投与という摂食に近い条件での筋肉における代謝制御ネットワークを初めて大規模に明らかにし、肝臓ネットワークとの統合により血糖及び血中脂質の恒常性の破綻メカニズムの全容が明らかとなることが期待されます。

研究成果の概要（英文）：To understand the mechanism of dysfunction of the inter-organ metabolic cycle in obesity, we constructed metabolic regulatory networks of liver and muscle, which are major glucose metabolizing organs, in wild-type mice and obesity model mice, and integrated them to construct a transomic network that crosses the liver and muscle. As a result, we newly constructed a muscle glucose responsive transomic network, which can be compared and integrated with the liver network. We found that metabolites themselves do not regulate metabolism in the muscle of obese mice, but are instead regulated by gene expression.

研究分野：オミクス解析

キーワード：トランスオミクス 臓器連関 肥満 インスリン マルチオミクス

1. 研究開始当初の背景

血糖値は、食事などの外的要因により摂動が加わってもインスリン等ホルモンが全身の臓器の代謝を制御することで、一定の値に維持される。このようなダイナミックな代謝変化は、血液を介した代謝物輸送を含む臓器間代謝サイクルの統合的な制御によって達成される。例えば空腹時の血糖値維持には、肝臓における糖新生によるグルコース合成が必要となるが、この糖新生の基質は血液を介して筋肉などからも供給される。糖以外にも臓器間輸送される代謝物はケトン体、脂肪酸、中性脂質、コレステロールなど多岐にわたる。肥満に伴う高血糖や高脂血症など代謝疾患は、臓器間代謝サイクルの統合的制御の崩れとして考えられる。実際肥満個体において肝臓や筋肉など代謝臓器がインスリン抵抗性を示すことが知られている。

各臓器における代謝制御機構は、DNA・RNA・タンパク質・代謝物など多様な分子からなる巨大ネットワークとして捉えられる。近年肥満個体を対象としたオミクス解析(各種分子の網羅的測定)が盛んに行われており、肥満関連分子が多数同定されている。トランスオミクス解析は、複数のオミクス解析から得られた分子群に対してネットワーク情報を付加することにより、大規模分子ネットワークを構築する解析である。これにより個別分子解析や単一オミクス解析では得られない分子間の制御メカニズムの大規模同定が可能となる。肥満マウスの肝臓から得られた複数オミクスデータを用いて分子ネットワークを構築した報告もあるが、対象は単一臓器に留まっており、肥満が複数臓器の代謝や臓器間代謝サイクルに及ぼす影響を、複数オミクスデータを統合し大規模に解析した研究はない。

本研究では、インスリンが生理的に分泌される糖投与後、肥満によるインスリン抵抗性がよく研究されている肝臓と筋肉間の臓器間代謝サイクルに焦点を当て、「肥満による複数臓器での代謝制御異常がいかに代謝の恒常性を乱すか」を大規模に解明した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、糖(グルコース)投与後の野生型マウスとレプチン欠損肥満(*ob/ob*)マウスの肝臓・筋肉・血液より取得したメタボローム(代謝物)・プロテオーム(タンパク質)・トランスクリプトーム(RNA)データを用いた、肝臓と骨格筋の代謝制御ネットワークを統合する肝臓筋肉連関トランスオミクスネットワークの構築である。これにより、食後高血糖など肥満がもたらす代謝疾患の原因となる新規経路を同定した。オミクス規模で複数臓器の分子ネットワーク解析を行った研究はこれまでなく、統計数理解析や配列解析のみならず、代謝に特化したデータベースを組み合わせたネットワーク構築を行った。本研究において開発するパイプラインは肥満関連疾患以外にも適用可能なものとし、様々な代謝疾患メカニズム解明へ応用できるようにした。

3. 研究の方法

肝臓の糖投与後代謝制御トランスオミクスネットワークは以前既に構築したものを使用した。筋肉については、まず糖投与後 20, 60, 120, 240 分の野生型マウスおよび *ob/ob* マウスの腓腹筋のメタボローム(キャピラリ電気泳動質量分器)・トランスクリプトームデータ(RNA シークンサ)をそれぞれ取得した。これらの野生型マウスおよび *ob/ob* マウスの筋肉の複数オミクスデータから、筋肉の代謝制御トランスオミクスネットワークを同定した。時系列オミクスデータから応答分子を統計的に同定したのち、分子の種類によりシグナル分子層、転写因子層、遺伝子発現層、代謝酵素層、代謝物層に配置した。各層内の応答分子間がデータベース等から取得した制御関係により結び付けた。シグナル層から転写因子層への制御と遺伝子発現層から代謝酵素層への制御関係は経路データベース KEGG から、代謝物層から代謝酵素層への制御関係や代謝データベース BRENDA から取得した。転写因子層から遺伝子発現層への制御関係は、転写因子結合モチーフデータベース TRANSFAC と階層的クラスタリングを組み合わせた手法により推定した遺伝子発現制御ネットワークから取得した。また筋肉ネットワークの特徴を抽出するために、代謝経路情報を用いたネットワーク縮約も行った。

4. 研究成果

構築した野生型マウスの筋肉における糖応答性トランスオミクスネットワークでは *ob/ob* マウスの約 2.5 倍の糖応答性の代謝物が存在し、多くの代謝酵素がこれらの糖応答性の代謝物の影響を受けていた(図 1)。特に ATP のような補酵素やクエン酸やコハク酸のような TCA サイクル中間体が、炭水化物やアミノ酸代謝に影響を与える可能性が示唆された。一方、*ob/ob* マウスの筋肉ネットワークでは、代謝酵素をコードする糖応答性遺伝子の数が野生型マウスの約 1.8 倍であり、その遺伝子は主に糖質代謝と脂質代謝に関連していた。また肝臓のネットワークと比較す

ることで、これらの傾向 (*ob/ob* マウスにおける代謝物による制御の消失及び遺伝子発現による制御の活性化、代謝物による糖代謝制御や遺伝子発現による脂質代謝制御など) が共通していることも確認された。

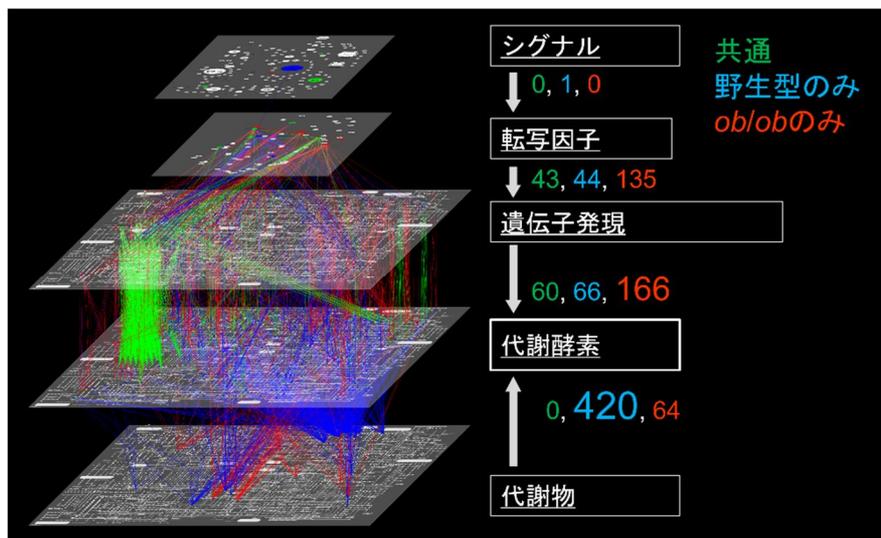


図1 . 筋肉における糖投与時の代謝制御トランスオミクスネットワークの全体

また、中心炭素代謝、分岐アミノ酸代謝、ケトン体代謝において、いくつかの特徴的な糖応答性制御経路を見いだした。野生型マウスにおける解糖系制御ネットワーク(図2)には、ATP や TCA サイクル中間体を含むアロステリックインヒビターの減少、解糖系遺伝子の発現増加、*Pdk4* の発現減少などの活性化制御経路が含まれており、これらが糖投与後の血糖恒常性に寄与したと考えられた。血中乳酸は増加したため、投与後に解糖系に流入した増加グルコースの多くは乳酸として血中に放出される可能性が示唆された。対照的に、*ob/ob* マウスでは F6P と G6P がかなり増加しており、グルコースから G6P への変換が血中グルコース濃度に反応して活性化されるが、それ以降の解糖系では活性化の程度が比較的低いことが示唆された。また、*ob/ob* マウスでは、解糖系のアロステリックな活性化はほとんど消失しており、*Hk2* は野生型マウスよりも大きな増加を示した。これは、アロステリックな制御に対する代償的な発現制御であると考えられた。BCAA 分解経路では、アミノ酸の減少と同様に、*Bckdhb* を含む代謝酵素の転写抑制と、*Bckdh27* の阻害キナーゼである *Bckdk* の転写活性化が、両マウス(特に *ob/ob* マウス)で見られた。これらの反応は、BCAA の TCA サイクル中間体への分解を抑制し、骨格筋における TCA サイクルフラックスの減少に寄与している可能性がある。空腹時の代替エネルギー源であるケトン体の血中濃度は、野生型マウス、*ob/ob* マウスともにグルコース投与後に低下した。また、骨格筋中のケトン体レベルも血中と同様の時系列を示したことから、ケトン体からアセチル CoA への分解も低下していることが示唆された。

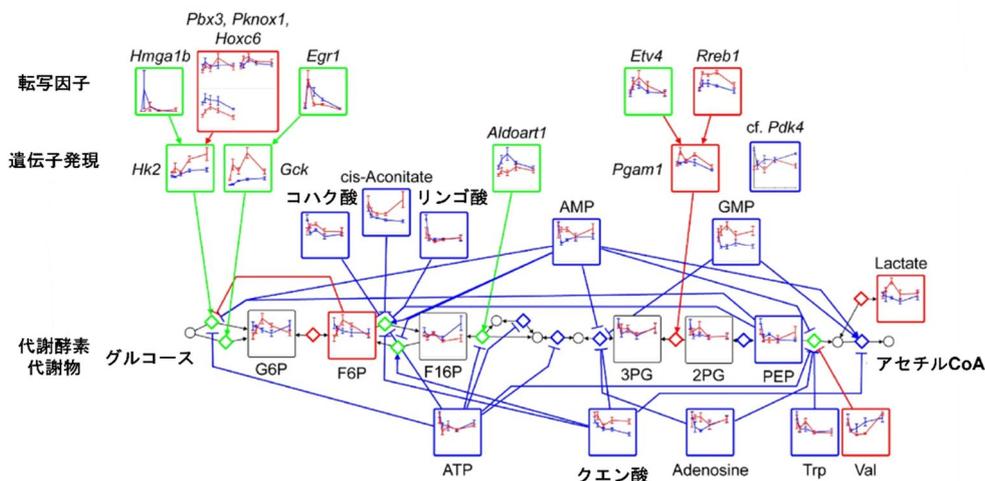


図2 . 筋肉における糖投与時の解糖系制御ネットワーク

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Ong Agnes Lee Chen, Kokaji Toshiya, Kishi Arisa, Takihara Yoshihiro, Shinozuka Takuma, Shimamoto Ren, Isotani Ayako, Shirai Manabu, Sasai Noriaki	4. 巻 26
2. 論文標題 Acquisition of neural fate by combination of BMP blockade and chromatin modification	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 107887 ~ 107887
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2023.107887	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 Maehara Hideki, Kokaji Toshiya, Hatano Atsushi, Suzuki Yutaka, Matsumoto Masaki, Nakayama Keiichi I., Egami Riku, Tsuchiya Takaho, Ozaki Haruka, M. Keigo, Shirai Masaki, Li Dongzi, T. Akira, U. Saori, H. Ken-ichi, O. Satoshi, K. Hiroyuki, Araki Hiromitsu, Miura Fumihito, Ito Takashi, Kuroda Shinya	4. 巻 13
2. 論文標題 DNA hypomethylation characterizes genes encoding tissue-dominant functional proteins in liver and skeletal muscle	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-023-46393-5	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 Bai Yunfan, Morita Keigo, Kokaji Toshiya, Hatano Atsushi, Ohno Satoshi, Egami Riku, Pan Yifei, Li Dongzi, Yugi Katsuyuki, Uematsu Saori, Inoue Hiroshi, Inaba Yuka, Suzuki Yutaka, Matsumoto Masaki, Takahashi Masatomo, Izumi Yoshihiro, Bamba Takeshi, Hirayama Akiyoshi, Soga Tomoyoshi, Kuroda Shinya	4. 巻 27
2. 論文標題 Trans-omic analysis reveals opposite metabolic dysregulation between feeding and fasting in liver associated with obesity	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 109121 ~ 109121
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2024.109121	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 Kokaji, T., Eto, M., Hatano, A., Yugi, K., Morita, K., Ohno, S., Fujii, M., Hironaka, K., Ito, Y., Egami, R., Uematsu, S., Terakawa A., Pan, Y., Maehara, H., Li, D., Bai, Y., Tsuchiya T., Ozaki H., Inoue, H., Kubota, H., Suzuki, Y., Hirayama, A., Soga, T., and Kuroda, S	4. 巻 12
2. 論文標題 In vivo transomic analyses of glucose-responsive metabolism in skeletal muscle reveal core differences between the healthy and obese states	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 13719
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-17964-9	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 Terakawa Akira, Hu Yanhui, Kokaji Toshiya, Yugi Katsuyuki, Morita Keigo, Ohno Satoshi, Pan Yifei, Bai Yunfan, Parkhitko Andrey A., Ni Xiaochun, Asara John M., Bulyk Martha L., Perrimon Norbert, Kuroda Shinya	4. 巻 25
2. 論文標題 Trans-omics analysis of insulin action reveals a cell growth subnetwork which co-regulates anabolic processes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 104231 ~ 104231
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2022.104231	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 Kawamura Genki, Kokaji Toshiya, Kawata Kentaro, Sekine Yuka, Suzuki Yutaka, Soga Tomoyoshi, Ueda Yoshibumi, Endo Mizuki, Kuroda Shinya, Ozawa Takeaki	4. 巻 16
2. 論文標題 Optogenetic decoding of Akt2-regulated metabolic signaling pathways in skeletal muscle cells using transomics analysis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Science Signaling	6. 最初と最後の頁 eabn0782
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/scisignal.abn0782	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 Ito Yuki, Uda Shinsuke, Kokaji Toshiya, Hirayama Akiyoshi, Soga Tomoyoshi, Suzuki Yutaka, Kuroda Shinya, Kubota Hiroyuki	4. 巻 13
2. 論文標題 Comparison of hepatic responses to glucose perturbation between healthy and obese mice based on the edge type of network structures	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 4758
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-31547-2	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1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 小鍛治俊也, 幡野敦, 伊藤有紀, 柚木克之, 衛藤樹, 守田啓悟, 大野聡, 藤井雅史, 廣中謙一, 江上陸, 寺川瑛, 土屋貴穂, 尾崎遼, 井上啓, 宇田新介, 久保田浩行, 鈴木稜, 池田和貴, 有田誠, 松本雅記, 中山敬一, 平山明由, 曾我朋義, 黒田真也
2. 発表標題 マウスの肝臓と骨格筋における臓器内および臓器間代謝制御とその肥満による制御異常のトランスオミクス解析
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会
4. 発表年 2022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
---------	---------