

令和 6 年 5 月 23 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K19496

研究課題名（和文）自律神経を介した脂肪組織代謝調節-副交感神経とアディポネクチン分泌機構-

研究課題名（英文）Autonomic nerve-mediated regulation of adipose tissue metabolism:  
parasympathetic nervous system and adiponectin secretion

研究代表者

窪田 直人（Kubota, Naoto）

東京大学・医学部附属病院・届出研究員

研究者番号：50396719

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：アディポネクチンはインスリン感受性ホルモンとして同定され、肥満に伴う分泌低下がインスリン抵抗性の原因の1つと考えられているが、その分泌調節機構は今なお十分に解明されていない。本研究では、肥満では通常低下するアディポネクチンが、視床下部腹内側核（VMH）の破壊モデルでは肥満を呈するにもかかわらず、むしろ増加するという見出し、アディポネクチン分泌が自律神経によって制御されていることを見出した。VMH破壊マウスの脂肪組織ではPPAR やFGF21の発現が上昇しており、これらの分子が肥満とは独立にアディポネクチン分泌を調節していることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

インスリン感受性ホルモンであるアディポネクチンが抗糖尿病作用・抗動脈硬化作用を有していることに関しては既に国内外から数多くの報告があったが、その分泌調節機構や病態における破綻のメカニズムについてはなお十分な知見が得られていなかった。本研究は、長年課題とされてきた“アディポネクチンの生理的な分泌調節機構とその破綻の分子メカニズム”の一端を解明し、新規肥満インスリン抵抗性治療開発につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Adiponectin has been identified as an insulin-sensitive hormone, and its decrease with obesity is thought to be causes of insulin resistance, but the regulatory mechanism is still not fully understood. In this study, we found that adiponectin is increased in a model of disrupted hypothalamic ventral medial nucleus (VMH) despite the presence of obesity, indicating that adiponectin secretion is regulated by the autonomic nervous system. The expression of PPAR and FGF21 was upregulated in the adipose tissue of VMH-disrupted mice, suggesting that these molecules regulate adiponectin secretion independently of obesity.

研究分野：糖尿病

キーワード：アディポネクチン

## 1. 研究開始当初の背景

アディポネクチンはインスリン感受性ホルモンであり、抗糖尿病作用・抗動脈硬化作用を有していることに関しては既に国内外から数多くの報告があるが、その分泌調節機構や病態における破綻のメカニズムについてはなお十分な知見が得られていない。臨床応用されているアディポネクチンをターゲットとした薬剤も PPAR $\gamma$  アゴニストのみにとどまっております、その使用頻度は減少傾向にある。本研究では、長年課題とされてきた“アディポネクチンの生理的な分泌調節機構とその破綻の分子メカニズム”を解明し、2型糖尿病やその併存症である動脈硬化症といった病態に結びつく課題の解明を目指した。肥満では通常アディポネクチンは低下するが、本研究開始時点で我々は VMH を破壊することにより肥満にもかかわらず、むしろアディポネクチンが増加するという事を見出していた。副交感神経を介した中枢と脂肪組織の臓器連関はほとんど報告がなく、本研究は中枢を介した新規の脂肪組織代謝調節機構の根本原理に迫るプロジェクトであり、肥満の改善を必要としない、これまでにない極めて新規性の高い抗糖尿病薬・抗動脈硬化薬の開発という画期的な意義が予想された。

## 2. 研究の目的

アディポネクチンは広くインスリン感受性ホルモンとして認知され、基礎・臨床研究の領域においてインスリン感受性の指標やインスリン抵抗性の原因としてしばしば検討されている。しかし発見の経緯となった肥満者で、なぜアディポネクチンが低下するのかについては残念ながらいままなお十分にその分子メカニズムは解明されていない。我々は以前アディポネクチンが視床下部を介して食欲を増加させエネルギー消費を抑制することを報告したが (Cell Metab. 6:55, 2007) これはまさに副交感神経が活性化されているときに認められる表現型であった。当時は中枢における作用メカニズムの解析にとどまっていたが、副交感神経がアディポネクチン分泌を調節しているとするならば、その作用は同じ方向性を示しており、一貫性がある。VMH 破壊マウスでは耐糖能異常は認められないものの、高インスリン血症や高レプチン血症など肥満でしばしば認められる表現型を呈していた。もし肥満やそれに伴うホルモン/サイトカインの変化等がアディポネクチンレベルの主要な調節因子であるならば、このモデルマウスで認められるアディポネクチンレベルの上昇を説明することはできない。このマウスで得られた表現型はアディポネクチン分泌が従来知られていた肥満に伴う高インスリン血症や炎症も含めた代謝異常よりも、交感神経活性化や副交感神経活性抑制によって調節されていることを示唆しており、大変興味深い。さらに VMH を破壊したモデル動物では、アディポネクチンの合成や分泌にかかわることが知られている PPAR や FGF21 の発現も増加しており、副交感神経活性化 - PPAR - FGF21 - アディポネクチン分泌経路の分子機構を明らかにすることができれば、これまでに報告されていない新規の中枢を介した脂肪組織の代謝調節機構モデルを提唱できるのではないかと考えた。

## 3. 研究の方法

近年自律神経を介した代謝調節機構が明らかにされつつあるが、その分子メカニズムについては今なお発展途上である。アディポネクチンはインスリン感受性ホルモンとして同定され、肥満に伴う分泌低下がインスリン抵抗性の原因の 1 つと考えられているが、その分泌調節機構は今なお十分に解明されていない。今回我々は自律神経中枢の一角をなす視床下部腹内側核 (VMH) を破壊すると、すなわち副交感神経が活性化されると、肥満を呈するにも関わらず血中アディポネクチンが増加することを見出した。これは肥満とは独立にアディポネクチン分泌が自律神経によって制御されていることを強く示唆していた。そこで本研究では VMH 破壊マウスを用いて自律神経がどのようにアディポネクチン分泌を制御しているか、アディポネクチンの発現・分泌を調節している PPAR や FGF21 の発現も含めて検討を行った。

## 4. 研究成果

### (1) 自律神経がどのようにアディポネクチン分泌を制御しているかを明らかにする

VMH は交感神経の中枢でありその破壊によって過食を呈していることから、VMH 破壊マウスでは交感神経活性が低下し副交感神経活性が上昇しているものと思われた。まずはじめに VMH 破壊マウスで認められたアディポネクチン上昇が迷走神経切断 (Vagotomy)、副交感神経遮断薬であるアトロピンの投与で減弱するかどうかを確認し、副交感神経を介することを証明した。さらに交感神経活性低下が重要なのか、副交感神経活性化が重要なのか、両方が必須なのかを判別するために、副交感神経活性化薬であるカルバコール投与、交感神経遮断薬 6-hydroxydopamine のそれぞれ単独投与、両薬剤同時投与の実験を行い、血中アディポネクチン濃度やアディポネクチン発現を検討した。また脂肪細胞は 95% が交感神経の支配を受けており、副交感神経の役割は不明であった。そこで脂肪組織に副交感神経の受容体であるムスカリン受容体やアセチルコリン受容体が発現しているのかどうか、VMH 破壊によってそれらの発現が変化するかどうかを測定す

るとともに、副交感神経のマーカーであるコリンアセチルトランスフェラーゼ(ChAT)の発現を免疫染色にて確認した。

(II)脂肪組織における自律神経を介したアディポネクチン分泌機構を検討する

VMH 破壊マウスではアディポネクチンの発現・分泌を調節している PPAR $\alpha$  や FGF21 の発現が上昇していた。そこで樹立した脂肪組織特異的 FGF21 欠損マウスや脂肪組織特異的 PPAR $\alpha$  欠損マウスに対して VMH 破壊を行い、血中アディポネクチン値やアディポネクチンの分泌・oligomerization に重要な DsbA-L、Ero1-L 等の発現を検討した。さらに、PPAR $\alpha$  と FGF21 がアディポネクチン産生や分泌にどのように関連しているかを明らかにするために、脂肪細胞特異的 FGF21 欠損マウスや脂肪細胞特異的 PPAR $\alpha$  欠損マウスの primary adipocyte を用いて PPAR $\alpha$  agonist や FGF21 recombinant などの添加実験を行った。さらにルシフェラーゼアッセイ、Chip-qPCR、EMSA、共免疫沈降法を用いて、脂肪細胞における PPAR $\alpha$ -FGF21-アディポネクチン経路の解明を試みた。さらに本当に副交感神経を介しているかどうかを明らかにするために、これら欠損マウスの VMH を破壊後に迷走神経切断(Vagotomy)や副交感神経遮断薬であるアトロピンの投与実験、副交感神経活性化薬投与による PPAR $\alpha$ 、FGF21、アディポネクチンの発現を検討し、副交感神経の活性化-PPAR $\alpha$ -FGF21-アディポネクチン発現分泌経路の重要性を検討した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Jinnouchi T, Sakurai Y, Miyoshi K, Koizumi C, Waki H, Kubota N, Yamauchi T.	4. 巻 61
2. 論文標題 A Case of Chronic Intestinal Pseudo-obstruction with Mitochondrial Diseases.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Intern. Med.	6. 最初と最後の頁 469-474
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 Iwamoto M, Kubota T, Sakurai Y, Wada N, Shioda S, Yamauchi T, Kadowaki T, Kubota N	4. 巻 10
2. 論文標題 The sodium-glucose co-transporter 2 inhibitor tofogliflozin suppresses atherosclerosis through glucose lowering in ApoE-deficient mice with streptozotocin-induced diabetes.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pharmacol. Res. Perspect.	6. 最初と最後の頁 e00971
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 Igarashi M, Nakagawa-Nagahama Y, Miura M, Kashiwabara K, Yaku K, Sawada M, Sekine R, Fukamizu Y, Sato T, Sakurai T, Sato J, Ino K, Kubota N, Nakagawa T, Kadowaki T & Yamauchi T.	4. 巻 8
2. 論文標題 Chronic nicotinamide mononucleotide supplementation elevates blood nicotinamide adenine dinucleotide levels and alters muscle function in healthy older men.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 npj Aging	6. 最初と最後の頁 5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 Watanabe Daiki, Murakami Haruka, Ohno Harumi, Tanisawa Kumpei, Konishi Kana, Todoroki-Mori Kikue, Tsunematsu Yuta, Sato Michio, Ogata Yuji, Miyoshi Noriyuki, Kubota Naoto, Kunisawa Jun, Wakabayashi Keiji, Kubota Tetsuya, Watanabe Kenji, Miyachi Motohiko	4. 巻 21
2. 論文標題 Stool pattern is associated with not only the prevalence of tumorigenic bacteria isolated from fecal matter but also plasma and fecal fatty acids in healthy Japanese adults	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Microbiology	6. 最初と最後の頁 196
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12866-021-02255-6	査読の有無 無
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 Hayashi Takanori, Kubota Tetsuya, Mariko Inoue, Takamoto Iseki, Aihara Masakazu, Sakurai Yoshitaka, Wada Nobuhiro, Miki Takashi, Yamauchi Toshimasa, Kubota Naoto, Kadowaki Takashi	4. 巻 70
2. 論文標題 Lack of Brain Insulin Receptor Substrate-1 Causes Growth Retardation, With Decreased Expression of Growth Hormone Releasing Hormone in the Hypothalamus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Diabetes	6. 最初と最後の頁 1640 ~ 1653
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2337/db20-0482	査読の有無 無
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 Hasegawa Yoko, Ijichi Hideaki, Saito Kei, Ishigaki Kazunaga, Takami Maki, Sekine Rie, Usami Satoshi, Nakai Yousuke, Koike Kazuhiko, Kubota Naoto	4. 巻 40
2. 論文標題 Protein intake after the initiation of chemotherapy is an independent prognostic factor for overall survival in patients with unresectable pancreatic cancer: A prospective cohort study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Nutrition	6. 最初と最後の頁 4792 ~ 4798
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clnu.2021.06.011	査読の有無 無
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 Furuzono Shinji, Kubota Tetsuya, Taura Junki, Konishi Masahiro, Naito Asuka, Tsutsui Masato, Karasawa Hiroshi, Kubota Naoto, Kadowaki Takashi	4. 巻 4
2. 論文標題 A xanthene derivative, DS20060511, attenuates glucose intolerance by inducing skeletal muscle-specific GLUT4 translocation in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 994
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-021-02491-6	査読の有無 無
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7件 (うち招待講演 7件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 窪田直人
2. 発表標題 2型糖尿病への臨床栄養学の進歩 糖尿病の食事療法 最新の知見も含めて
3. 学会等名 第44回日本臨床栄養学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 窪田直人
2. 発表標題 2型糖尿病の病態と薬物治療
3. 学会等名 第67回日本内科学会信越支部生涯教育講演会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 窪田直人
2. 発表標題 肥満症の食事療法・栄養指導
3. 学会等名 第43回日本肥満学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 窪田直人
2. 発表標題 肥満2型糖尿病における栄養療法を考える：肥満2型糖尿病における栄養療法の現状と課題
3. 学会等名 第41回日本肥満学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 窪田哲也
2. 発表標題 脂肪細胞+炎症：肥満におけるM2マクロファージ活性化障害機構
3. 学会等名 第41回日本肥満学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 窪田直人
2. 発表標題 ヒトの腸内細菌叢とインスリン抵抗性におけるMulti-Omics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

1. 発表者名 窪田哲也
2. 発表標題 糖尿病の病態-immunometabolism(免疫代謝学)からのアプローチ高インスリン血症によるM2マクロファージ活性化障害
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

〔図書〕 計4件

1. 著者名 窪田直人, 窪田哲也, 門脇孝	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 7
3. 書名 医学のあゆみ	

1. 著者名 窪田直人	4. 発行年 2021年
2. 出版社 日本糖尿病協会	5. 総ページ数 4
3. 書名 月刊糖尿病ライフ	

1. 著者名 澤田実佳,窪田 直人	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医学出版	5. 総ページ数 7
3. 書名 月刊糖尿病	

1. 著者名 林高則,窪田直人	4. 発行年 2021年
2. 出版社 文光堂	5. 総ページ数 7
3. 書名 Medical Practice	

〔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
研究 分担者	窪田 哲也  (Kubota Tetsuya)  (60385698)	公益財団法人朝日生命成人病研究所・その他部局等・教授 (移行)  (82654)	
研究 分担者	相原 允一  (Aihara Masakazu)  (60779362)	東京大学・医学部附属病院・助教  (12601)	

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