

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 7 日現在

機関番号：34533

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22790097

研究課題名（和文） 長鎖脂肪酸：アミノ酸抱合経路によるインスリン抵抗性の制御

研究課題名（英文） The role of long chain fatty acid:amino acid conjugation in insulin resistance

研究代表者

伊藤 崇志（TAKASHI ITO）

兵庫医療大学・薬学部・助教

研究者番号：80423119

研究成果の概要（和文）：

本研究では、組織中タウリンの欠乏を呈するタウリントランスポーター遺伝子欠損マウスにおける高脂肪食誘発性の病態への影響について解析を行った。その結果から、タウリン欠乏状態では耐糖能異常やインスリン抵抗性になりにくいことが明らかになった。また、タウリン欠乏マウスの組織ではエネルギー産生が効率よく行えないことがその原因となっていることが考えられた。

研究成果の概要（英文）：

We evaluated the impacts of taurine deficiency to high fat diet-induced pathology by using taurine transporter knockout mice. The present studies indicate that taurine deficiency improve high fat diet-induced glucose intolerance and insulin resistance. Moreover, our data suggest that taurine deficiency causes inefficient energy production in tissues, which results in the improvement against high fat diet-induced pathology.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：インスリン抵抗性、脂質毒性、脂肪酸、タウリン、アミノ酸、タウリントランスポーター

1. 研究開始当初の背景

メタボリックシンドロームや肥満に伴い、血中の脂肪酸レベルが上昇し、非脂肪組織に脂肪酸が蓄積する。非脂肪組織において脂肪酸代謝能は限られるため、余剰になった遊離脂肪酸はセラミドや過酸化脂質など細胞毒

性のある脂質を生じ、脂肪毒性を生じる。脂肪毒性は膵β細胞や骨格筋などにおいて組織障害の原因となり、インスリン抵抗性やインスリン分泌異常を引き起こす。

一方、近年、脂肪酸アミド加水分解酵素（FAAH）の遺伝子欠損マウスにおける脂質

メタボローム解析から、長鎖脂肪酸のタウリン抱合体 (N-アシルタウリン) が同定され、これまでに脳、心臓、肝臓での存在が確認された。長鎖脂肪酸に対するタウリン抱合は細胞内に余剰な脂肪酸及び脂肪酸中間代謝物の解毒・排泄機構として機能する可能性が考えられた。しかしながら、その病態生理学的意義は明らかでない。

2. 研究の目的

以上の背景から、アミノ酸抱合経路が細胞内の余剰な遊離脂肪酸の解毒機構として機能し、肥満やメタボリックシンドロームにおいて脂肪毒性に起因した耐糖異常やインスリン抵抗性の制御に関わる可能性があると考えた。本研究では、長鎖脂肪酸：アミノ酸抱合経路が脂肪酸排泄機構として機能するか解析し、脂肪毒性との関連性を検討した。

3. 研究の方法

(1) タウリントランスポーター欠損マウス (以下、TauTKO マウス) において、高脂肪食 (60%脂肪含有) で飼育後の耐糖能、インスリン抵抗性、血液生化学値、肝障害を評価した。

(2) タウリントランスポーター組織中の代謝物質について LC-Orbitrap-MS を用いたメタボローム解析を行った。

4. 研究成果

(1) タウリン欠乏と高脂肪食誘発性疾患との関連性：

① TauTKO マウスは組織のタウリン欠乏を呈することから、TauTKO マウスではタウリンによる脂肪酸抱合機構が欠如するために、高脂肪食負荷によっておこる耐糖能異常や組織傷害が悪化する可能性が考えられた。そこで、TauTKO マウス及び野生型マウスを高脂肪食下で飼育し、これらの解析を行った。高脂肪食飼育下での体重推移は、開始から 4

週後までは体重増加が TauTKO マウスにおいては野生型に比して低調であったが、その後は同様に体重増加した。続いて、高脂肪食開始前及び高脂肪食開始から 8 週、16 週後にそれぞれ耐糖能試験を行った。高脂肪食負荷前の耐糖能は TauTKO においては野生型よりもグルコース腹腔投与後の AUC (血中グルコース濃度推移曲線下面積) が低値であった。また、インスリン濃度は絶食後、グルコース投与後ともに TauTKO マウスにおいて低値であった。次に、高脂肪食後の耐糖能は両マウスとも耐糖能の悪化がみられたが、TauTKO マウスは野生型マウスに比べて耐糖能が良好であった。インスリン抵抗性についても同様で、高脂肪食開始から 16 週後にインスリン抵抗性を評価したところ、野生型では顕著な悪化が認められたが、TauTKO マウスでは良好なインスリン感受性がみられた。以上のことから、タウリン欠乏により高脂肪食誘発性 2 型糖尿病の発症が抑制されることが明らかになった。

この結果は当初の仮説とは異なるものであり、タウリンの脂肪酸排泄促進効果とは関連性がないと考えられる。これまでの研究で、タウリン欠乏マウスの骨格筋においてミトコンドリアでのエネルギー産生異常が見られ、代償的な解糖系の亢進や組織グルコース取り込みの活性化などが観察されており、これらの現象が今回得られた結果と関連しているものと考察される。

② 次に、高脂肪食誘発性の肝臓障害について評価した。高脂肪食負荷後、野生型マウス、TauTKO マウスともに血漿コレステロールの上昇がみられたが、TauTKO マウスでは野生型に比べて低かった。また、血漿中 AST、ALT 活性は野生型において TauTKO マウスよりも高値を示した。凍結切片を作製して肝臓中の脂肪蓄積量を評価したところ、野生型マウス

においてはTauTKOマウスよりも顕著な脂肪蓄積が認められた。

以上のことから、タウリン欠乏は高脂肪食誘発性の脂肪肝に対しても抑制的に働くことが明らかになった。この結果についても、エネルギー産生の低下による代償的なエネルギー消費の活性化が寄与しているものと考察される。

(2) タウリン欠乏による組織代謝物の変動: 脂肪酸のタウリン抱合体であるN-アシルタウリンの同定をLC-Orbitrap-MSを用いたメタボローム解析により試みた。上記のTauTKOマウスにおいては組織中タウリンが欠乏することから、N-アシルタウリンも欠乏し、野生型マウスとの比較によりN-アシルタウリンの同定が容易になることが考えられる。本研究では野生型マウス及びTauTKOマウスの組織から代謝物を抽出し、両マウス間での変動をメタボローム解析した。その結果、TauTKOマウス組織においてアシルカルニチン、グルタチオン、 α アミノ酸類は増加する傾向が見られた。一方で、目的としていたN-アシルタウリンは同定されなかった。N-アシルカルニチンはミトコンドリアにおける脂肪酸酸化の中間代謝物であるアシルCoAの余剰分がカルニチンにより抱合されたものと解釈できる。したがって、タウリン欠乏により脂肪酸酸化の活性に影響がみられることが示唆される。

次に、N-アシルタウリンが同定できなかった原因として、これが非常に微量であるために、他の代謝物にマスクされてしまったことが考察される。したがって、抽出法を変更するなどして同定法を検討する必要があり、現在、解析中である。

(3) 本研究の位置づけ: これまでに糖尿

病や糖尿病に伴う血管傷害等の合併症に対するタウリン投与の有効性が数多く報告されていることから、タウリン欠乏が糖尿病の治療に応用されることは考えにくい。すでに考察したように、本研究の結果はミトコンドリアにおけるエネルギー産生の低下に伴う代償的なエネルギー源分解や組織取り込みの活性化がTauTKOマウス組織において起きていることを支持するものである。また、本研究からタウリンがミトコンドリア脂肪酸酸化に関連する可能性が示された。これらの知見はこれまでの報告にはなく、タウリンの病態生理学的役割の解明にとどまらず、2型糖尿病など生活習慣病に対する新たな治療戦略の開発へとつながることが期待される。

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4件)

- ① Takashi Ito, Junichi Azuma. Taurine depletion-related cardiomyopathy in animals. In Veselka J (eds) Cardiomyopathy-From Basic Research to Clinical Management (査読なし)2012,537-552
- ② Takashi Ito, Stephen W. Schaffer, Junichi Azuma. Useful effects of taurine on diabetes mellitus and its complications. Amino Acids (査読有) 42,1529-1539, 2012
- ③ Takashi Ito, Shohei Oishi, Mika Takai, Yasushi Kimura, Yoriko Uozumi, Yasushi Fujio, Stephen W. Schaffer, Junichi Azuma. Cardiac and skeletal muscle abnormality in taurine transporter-knockout mice. Journal of Biomedical Science. (査読なし) Suppl 1:S20. 2010
- ④ Chiang Ju Jong, Takashi Ito, Mahmood Mozaffari, Junichi Azuma, Stephen W. Schaffer. Effect of beta-alanine treatment on mitochondrial

taurine level and 5-taurinomethyluridine content. Journal of Biomedical Science. (査読なし)Suppl 1:S25. 2010

〔学会発表〕(計 12 件)

- ① 木根啓多、タウリン欠乏マウス心筋における遺伝子発現変動の解析、日本薬学会第 132 回年会、2012 年 3 月 29 日、札幌
- ② 花畑友規、タウリン欠乏マウスにおける加齢依存的な心繊維化の亢進、日本薬学会第 132 回年会、2012 年 3 月 29 日、札幌
- ③ 宮崎奈津子、タウリントランスポーター欠損マウスにおける創傷治癒の遅延、日本薬学会第 132 回年会、2012 年 3 月 29 日、札幌
- ④ 山谷安奈、高食塩ストレスによる骨格筋細胞におけるアドレノメデュリンの発現誘導、日本薬学会第 132 回年会、2012 年 3 月 29 日、札幌
- ⑤ 吉川夏未、タウリントランスポーター欠損マウスの運動時におけるエネルギー代謝の変動、日本薬学会第 132 回年会、2012 年 3 月 29 日、札幌
- ⑥ 伊藤崇志、タウリントランスポーターノックアウトマウスにおけるトレッドミル運動中の基質代謝応答の変化、第 85 回日本薬理学会年会、2012 年 3 月 14 日、京都
- ⑦ 宮崎奈津子、タウリン欠乏の創傷治癒への影響、第 81 回日本薬学会・近畿支部会、2011 年 10 月 22 日、神戸
- ⑧ 山谷安奈、高食塩ストレスによる骨格筋における遺伝子発現変動の解析、第 81 回日本薬学会近畿支部会、2011 年 10 月 22 日、神戸
- ⑨ 吉川夏未、タウリントランスポーター欠損マウス骨格筋におけるミトコンドリアエネルギー代謝、第 81 回日本薬学会・近畿支部会、2011 年 10 月 22 日、神戸
- ⑩ 伊藤崇志、The role of taurine deficiency in physiological stress: a study in taurine transporter

knockout mice. International congress on Amino acids, Peptides and Proteins, 2011 年 8 月 4 日、北京(中国)

- ⑪ 伊藤崇志、タウリントランスポーターノックアウトマウスの骨格筋におけるトレッドミル運動後の脂質代謝の変化、第 84 回日本薬理学会年会、2011 年 3 月 24 日、横浜
- ⑫ 伊藤崇志、ウリントランスポーター欠損マウスの骨格筋における遺伝子発現解析、第 131 回日本薬学会年会、2011 年 3 月 28 日、静岡

〔その他〕

ホームページ等

<http://www2.huhs.ac.jp/~h090018t/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

伊藤 崇志 (TAKASHI ITO)
兵庫医療大学・薬学部・助教
研究者番号：80423119