

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25年 5月 12日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23790088

研究課題名（和文） 小胞体ストレスを標的とした生活習慣病の新たな治療戦略

研究課題名（英文） Novel therapy for metabolic syndrome targeting ER stress

研究代表者

細井 徹 (HOSOI TORU)

広島大学・大学院医歯薬保健学総合研究院・講師

研究者番号：40379889

研究成果の概要（和文）：

肥満は生活習慣病の主要な危険因子である。近年、レプチン抵抗性が肥満の原因として注目されており、従ってレプチン抵抗性改善薬は、肥満及や生活習慣病の治療に有効であると考えられている。現在までの研究の結果、小胞体ストレスがレプチン抵抗性の原因である可能性を見いだしている。今回私達は、小胞体ストレスに着目し、レプチン抵抗性の原因を明らかにし、有効な薬物の探索を試みた。本研究において、生体内小胞体ストレス誘発因子についての解析を行い、小胞体ストレス活性化機構を明らかにした。また、小胞体ストレスを標的とした薬物の薬理作用を明らかにし、レプチン抵抗性改善効果の実態解明を試みた。

研究成果の概要（英文）：

Obesity is known as a major risk factor for the development of metabolic syndrome. Recent research suggested that “leptin resistance” is one of the mechanisms responsible for the development of obesity. Therefore, the drug attenuating “leptin resistance” would be promising therapeutic drug target for obesity and metabolic syndrome. In the previous study, we found that endoplasmic reticulum (ER) stress would be involved in the development of “leptin resistance”. Our purpose of the present study was to find out the mechanism of “leptin resistance” and develop novel drug for the disease targeting ER stress. In the present study, we analyzed physiological factor, which is responsible for activating ER stress. Furthermore, we investigated the mechanism of the activation of ER stress and pharmacological property of the drug targeting ER stress, which could attenuate “leptin resistance”.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：中枢神経薬理学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：小胞体ストレス、肥満、レプチン

1. 研究開始当初の背景

肥満は糖尿病、高血圧といった生活習慣病

の主要な危険因子である。しかしながら、その治療薬は対処療法によるものが主であり、新しい治療薬の開発が必要とされている。

生体は、ストレスの下に置かれると適応反応を引き起こし、ストレスに応じた対抗処置機構を作動させる。小胞体ストレスとは、「小胞体内に折り畳み不完全なタンパク質が蓄積した状態」のことを言い、最終的には生体にとって不都合な状態に陥る。一方で生体はこのような危機的状況に対抗するべく、様々な応答機構を作動させることもわかってきている。近年、この「小胞体ストレス」が、神経変性疾患や糖尿病の発症に関わっていることが示唆されてきており注目されている (Cell 2010, 140:900-917)。

「レプチン」は脂肪組織より循環血液中に分泌され、脳（視床下部）に作用し、エネルギー代謝亢進、摂食抑制効果により抗肥満作用を惹起するホルモンである。近年、多くの肥満患者は、「レプチン抵抗性」の状態（レプチンが効かない→体重減少作用が惹起されない→肥満）であり、肥満の原因として世界的に問題視されている (Science 2003, 299:856-858)。従って現在、「レプチン抵抗性」の原因を明らかにすることは、肥満の治療薬開発において重要であり、世界的に研究が進められている。そのような中、私達は肥満（レプチン抵抗性）に小胞体ストレスが関わることを見出すことに成功した (Mol. Pharmacol. 2008, 74:1610-1619)。本研究成果はレプチン抵抗性の新しい機構として取り上げられた (Cell 2008, 135: 20-22; Nature Reviews Immunology 2008, 8:923-934.)。また、私達の発表の後、同様の研究結果がハーバード大学の Ozcan らのグループにより報告された (Cell Metab. 2009, 9: 35-51)。従って、小胞体ストレスを標的とした薬物は、今までにない新しいタ

イプの治療薬としての可能性を秘めていると考えられる。実際に私達の予備検討の結果、小胞体ストレス改善効果を有する薬物を見出しており、本研究によるさらなる解析により新規薬物の可能性を提示できると考えている。

## 2. 研究の目的

私達は、これまでに肥満の発症に「小胞体ストレス（不良品蛋白質の蓄積によって生じるストレス）」が関わっている事を明らかにしてきた。本研究では、生体において「小胞体ストレス」が生じる要因および「小胞体ストレス」による生活習慣病発症機構を明らかにする。また、「小胞体ストレス」を標的とした薬物を明らかにすることで新しいタイプの治療薬を提示することを目的とした。

## 3. 研究の方法

「小胞体ストレス」発症機構とそれによる生活習慣病発症機構の解析：

私達は最近、homocysteine（それ自身小胞体ストレスを誘発する）が「レプチン抵抗性」を誘発していることを明らかにした

(Molecular Pharmacology 2008, 74:1610-1619) が、その詳細なメカニズムは不明である。そこで、homocysteine 代謝過程に着目し、レプチン抵抗性との関連性について検討を行った。

また、中枢神経系における小胞体ストレスがレプチン抵抗性を獲得するメカニズムを解明する目的で、グリア細胞における小胞体ストレスシグナル伝達機構の解明を試みた。

「小胞体ストレス」を標的とした薬物の解析：

私達は今までの予備検討の結果、小胞体ストレスを標的とした抗肥満薬候補物質を見

出すことに成功している。そこで、本薬物の作用メカニズムの詳細について検討を試みた。

#### 4. 研究成果

「小胞体ストレス」発症機構とそれによる生活習慣病発症機構の解析：

S-Adenocylhomocysteine が酵素的に加水分解されると homocysteine と adenosine が生成される。今回、homocysteine と adenosine を細胞に前処置し、レプチンシグナル（レプチンにより活性化される STAT3 のリン酸化）を検討した。その結果、homocysteine と adenosine の供刺激により、相乗的なレプチンシグナル抑制（STAT3 のリン酸化抑制）効果が認められた。そこで、その生理的意義を検討する目的で、homocysteine と adenosine をラット脳室内投与し、レプチンによる摂食抑制効果を検討した。その結果、レプチンによる摂食抑制効果は homocysteine と adenosine 処置により抑制された。従って homocysteine と adenosine は、レプチン抵抗性の形成に関与している可能性が考えられた。

Casein kinase 2 (CK2) は真核細胞において、細胞内に広く存在する、2 つの  $\alpha$  または  $\alpha'$  触媒サブユニットと、2 つの  $\beta$  調節サブユニットからなる四量体の serine/threonine kinase であり、細胞生存のシグナル伝達経路に関与していることが知られている。今回、グリア細胞における小胞体ストレスシグナル経路活性化へのCK2の関与の可能性を検討した。その結果、CK2の特異的阻害薬 4,5,6,7-tetrabromobenzotriazole (TBB) 処置により、小胞体ストレスによる XBP-1 splicing 並びにGRP78誘導が抑制された。さらに、CK2 siRNA によりノックダウンしたときも同様の結果が得られた。一方、TBB

処置は 小胞体ストレスによる eIF2 $\alpha$  活性化、CHOP 誘導には影響しなかったことより、CK2 は XBP-1-GRP78 経路特異的に作用する可能性が示唆された。以上の検討より、グリア細胞における小胞体ストレスシグナル伝達機構の一端が明らかになった。今後、上記検討結果に基づきレプチン抵抗性形成へのグリア細胞の役割をさらに明らかにしていきたい。

「小胞体ストレス」を標的とした薬物の解析：  
培養細胞に本薬物を処置した時の小胞体ストレス応答経路（UPR 活性化）への影響を検討したところ、抑制効果を示した。また、本薬物はケミカルシャペロン効果を示したことより、本薬物は、タンパク質の折り畳みを促進することで小胞体ストレス軽減効果を示している可能性が示唆された。

#### 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 5 件）

1. Hosoi T, Korematsu K, Horie N, Suezawa T, Okuma Y, Nomura Y, Ozawa K. Inhibition of casein kinase 2 modulates XBP1-GRP78 arm of unfolded protein responses in cultured glial cells. PLoS One. 2012;7(6):e40144. 査読有
2. Hosoi T, Miyahara T, Kayano T, Yokoyama S, Ozawa K. Fluvoxamine attenuated endoplasmic reticulum stress-induced leptin resistance. Front Endocrinol (Lausanne). 2012;3:12, 1-5 査読有
3. Hosoi T, Ozawa K. Molecular approaches to the treatment, prophylaxis, and diagnosis of Alzheimer's disease:

endoplasmic reticulum stress and immunological stress in pathogenesis of Alzheimer's disease. J Pharmacol Sci. 2012;118(3):319-24. 査読有

4. Yokoyama S, Hosoi T, Ozawa K. Stearoyl-CoA Desaturase 1 (SCD1) is a key factor mediating diabetes in MyD88-deficient mice. Gene. 2012 Apr 15;497(2):340-3. 査読有

5. Mimori S, Okuma Y, Kaneko M, Kawada K, Hosoi T, Ozawa K, Nomura Y, Hamana H. Protective effects of 4-phenylbutyrate derivatives on the neuronal cell death and endoplasmic reticulum stress. Biol Pharm Bull. 2012;35(1):84-90. 査読有

[学会発表] (計7件)

1. 山口 理恵、細井 徹、馬場 幸子、豊田 圭亮、野地 紀久子、小澤 光一郎 小胞体ストレスを標的とした新規抗肥満薬の探索 第85回 日本薬理学会年会 2012年3月14～16日 京都市

2. 豊田圭亮、細井 徹、小澤光一郎 肥満における小胞体ストレス誘導性のレプチン抵抗性改善化合物の探索 第85回 日本薬理学会年会 2012年3月14～16日 京都市

3. 横山匠太、細井 徹、小澤光一郎 MyD88遺伝子欠損による糖尿病発症機構の解明～コレステロール合成制御異常の関与～ 第120回日本薬理学会近畿部会 2011年1月11日、京都市

4. 細井 徹、馬場 幸子、松尾 俊、山口 理

恵、豊田 圭亮、茅野貴秋、小澤 光一郎 小胞体ストレスによるレプチン抵抗性を標的とした生活習慣病に対する創薬ターゲットの探索 第6回小胞体ストレス研究会 2011年10月28日、岡山市

5. 細井 徹、馬場 幸子、松尾 俊、山口 理恵、豊田 圭亮、茅野貴秋、大熊康修、野村 靖幸、小澤 光一郎 肥満脳におけるレプチン受容体応答系抑制機構の解明と創薬：小胞体ストレスの関与 第38回 日本脳科学会 沖縄県那覇市 2011年10月8-9日

[その他]

ホームページ等

<http://home.hiroshima-u.ac.jp/tiryoin/index.htm>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

細井 徹 (HOSOI TORU)

広島大学・大学院医歯薬保健学総合研究院・講師

研究者番号：40379889

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：