

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 2 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2012～2014

課題番号：24249053

研究課題名(和文) FSTL3-Activin系による肥満糖尿病の病態調節機構の解明と治療への応用

研究課題名(英文) Elucidation of the role of FSTL3/Activin axis in the development of obesity-induced diabetes

研究代表者

植木 浩二郎 (Ueki, Kohjiro)

東京大学・医学部附属病院・特任教授

研究者番号：00396714

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,700,000円

研究成果の概要(和文)：肥満のごく初期から発現が上昇する脂肪細胞から分泌される因子としてFSTL3を同定した。FSTL3をマウスに過剰発現させると、耐糖能が悪化し、肥満マウスでFSTL3を抑制すると糖尿病が改善した。一方、FSTL3と結合することが知られているActivin Bを肥満マウスに過剰発現させると糖尿病が改善し、その作用はFSTL3の共発現で消失した。このActivin Bの血糖降下作用は、インスリン分泌の増強、肝糖新生の抑制、インスリン感受性の増強などの多彩な機序を介していることが明らかになった。以上から、FSTL3/Activin axisの調節は肥満糖尿病の画期的治療法となる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We have identified FSTL3 as an adipokine whose expression starts increasing at the very early stage of obesity. Adenovirus-mediated gene transfer of FSTL3 in mice resulted in impaired glucose tolerance, while suppression of FSTL3 by an antisense oligonucleotide or a neutralizing antibody improved it in obese diabetic mice. On the other hand, Adenovirus-mediated gene transfer or administration of Activin B, which is known to bind to FSTL3, markedly ameliorated impaired glucose homeostasis in obese diabetic mice. We have found that this beneficial effect of Activin B is mediated through enhancement of insulin secretion, suppression of hepatic gluconeogenesis and improvement of insulin sensitivity. These data suggest that modulation of FSTL3/Activin axis may be a promising therapeutic strategy for the treatment of obesity-induced diabetes.

研究分野：糖尿病代謝内科学

キーワード：糖尿病 肥満 アディポカイン

1. 研究開始当初の背景

肥満によって糖尿病やメタボリックシンドロームが惹起されるメカニズムは、内臓脂肪組織から分泌される TNF- α などのいわゆる悪玉アディポカインが、肝臓や骨格筋でインスリンシグナルを直接阻害したり糖脂質代謝を抑制するなどしてインスリン抵抗性を惹起したり、血管収縮や動脈硬化を引き起こしたりすると考えられている。その端緒として、肥大化した脂肪細胞や T 細胞などから MCP-1 等のケモカインが分泌され、マクロファージの脂肪組織への遊走・浸潤を促すといわれている。実際我々は、MCP-1 の transgenic マウスが脂肪組織のマクロファージ数を増加させ (Kamei et al. JBC 2006)、脂肪組織から分泌される悪玉アディポカインにより種々の組織で SOCS 蛋白が誘導されインスリン抵抗性や脂肪肝を引き起こすことを見いだしてきた (Ueki et al. MCB 2004, Ueki et al. PNAS 2004)。さらに、ケモカイン受容体によって活性化されマクロファージなどの免疫担当細胞の遊走に必須である PI3K γ の活性を抑制すると、肥満モデルマウスにおいてマクロファージの浸潤が抑制され、インスリン抵抗性が改善することを示してきた (Kobayashi et al. PNAS 2011)。しかしながら、このようなマクロファージ浸潤の抑制でも肥満動物の耐糖能は完全には改善せず、その他の経路の関与が示唆されている。また、上述の機序は主に動物モデルからの知見をもとにしており、ヒトにおいて肥満インスリン抵抗性の最上流因子を同定することが重要であると考えられた。実際、予備検討では、マウスにおいては高脂肪食負荷数日後には高血糖やインスリン抵抗性が既に見られるが、脂肪組織においてはマクロファージの浸潤や炎症性アディポカインの上昇などは認められず、肥満のごく初期から糖代謝を悪化させる未知の因子が増加することが示唆された。

2. 研究の目的

肥満の際に最初に変化を引き起こす因子を同定できれば、そこに介入することによって肥満関連疾患を一網打尽に予防・治療できる可能性があるが、真に治療に応用するためには、これまでのように主に動物モデルからの知見ではなく、ヒトにおいて何が肥満による病態を最も上流で規定しているのかを解明する必要がある。このことをヒトにおいて検証するために、我々は非糖尿病で BMI18~35 に分布するヒト皮下脂肪組織および内臓脂肪サンプルを形成外科・大腸肛門外科との連携により採取し (研究課題名: 脂肪組織を用いた生活習慣病関連遺伝子の同定、東京大学医学部倫理委員会承認番号 951) 肥満のごく初期から発現が上昇する分泌蛋白候補として、これまでアディポカインとしては知られていなかった FSTL3 (Follistatin like-3) を同定した。FSTL3 は、それ自身が酵素活性などを持つのではなく、TGF β スーパーファミ

リー蛋白に結合してその作用を阻害するといわれている。したがって、本研究では、肥満における FSTL3 とそのターゲットである TGF β スーパーファミリー蛋白の調節機構や病態形成における役割を解明することによって、糖尿病をはじめとする肥満関連疾患の画期的治療法の開発を目指している。

3. 研究の方法

(1) ヒトおよびマウスにおける、肥満による FSTL3 の発現部位や発現変化、およびインスリン抵抗性などとの関連性を検討する。

(2) 野生型マウスに FSTL3 を過剰発現させたり、肥満マウスでの FSTL3 の発現や作用を抑制したりすることで、糖代謝等における FSTL3 の役割を検討する。

(3) FSTL3 が阻害する因子である Activin の糖代謝改善作用の分子メカニズムを個体レベル・細胞レベル・分子レベルで検討する。

4. 研究成果

(1) 非糖尿病で BMI18~35 に分布するヒト皮下脂肪組織および内臓脂肪サンプルを形成外科・大腸・肛門外科との連携により採取し、cDNA マイクロアレイによる網羅的に発現解析を行い、シグナルペプチドを持つ分子で肥満で早期から変化し、肥満と共に増加する分子を 17 因子、減少する分子を 10 因子同定した。その中には、前者の因子としてレプチンが後者の因子としてアディポネクチンが含まれており、系の適切性を示していると考えられた。この中から特に、肥満の早期から発現が増加しインスリン抵抗性などのパラメーターとも相関する分子として、FSTL3 に注目した。また、Leipzig 大学 Blüher 教授との共同研究により、高度肥満や糖尿病患者も含むドイツ人 188 名の皮下脂肪・内臓脂肪においてその発現を検討したところ、FSTL3 は皮下脂肪に比して内臓脂肪により多く発現しており、BMI や腹囲と強く相関し、クランプ法を用いて測定したインスリン感受性と逆相関していることが確認され、FSTL3 の発現と肥満・インスリン抵抗性の間には人種を越えて相関があることが判明した。また、マウスにおいては、FSTL3 の発現は性腺および腎臓に主に認められたが、高脂肪食負荷では、負荷後数日から脂肪組織での発現が認められ肥満完成後には内臓脂肪優位の高発現が認められた。db/db マウスにおいては、皮下脂肪組織でも内臓脂肪組織でも高度に発現していた。さらに、マウス脂肪組織から脂肪細胞画分と stromal vascular cell (SVC) 画分を分取して発現を確認したところ、脂肪細胞のみに発現していることが判明した。また、3T3L1 細胞においては、脂肪細胞への分化と共に FSTL3 の発現と培養液中への出現を認めたことから、FSTL3 が脂肪細胞から分泌されるアディポカインであることが確認された。

(2) FSTL3 を野生型マウスにアデノウイルスを用いて過剰発現させると、耐糖能やインスリン感受性の低下が認められた。逆に db/db

マウスに FSTL3 のアンチセンスオリゴヌクレオチドを投与すると、脂肪組織における FSTL3 の発現が 1/3 程度に減少し、耐糖能が著明に改善した。また、その際脂肪組織での炎症性サイトカインの発現低下や肝臓や骨格筋に於けるインスリンシグナルの改善も認められた。同様の効果は、*db/db* マウスに FSTL3 の中和抗体を投与した場合にも認められた。

(3) FSTL3 は、TGF β スーパーファミリー蛋白に結合してその作用を阻害していると考えられる。その中でも最も結合能が強いと言われている Activin A および Activin B について *db/db* マウスや高脂肪食負荷マウスにアデノウイルスを用いて高発現させることにより、糖代謝に関する影響を検討した。Activin A の過剰発現でも Activin B の過剰発現でも肥満マウスの耐糖能やインスリン感受性は著明に改善したが、その効果は Activin B の方が大きく以後 Activin B を中心に解析を行った。Activin B の血糖降下作用には、膵細胞においてインスリン分泌を増強させること、肝臓において糖新生を抑制すること、末梢組織のインスリン感受性を亢進させること、マクロファージの炎症性変化を抑制すること、等が関与していると考えられた。の作用は、単離ラ氏島に Activin B を投与することでも得られることから、短期的かつ直接的なインスリン分泌機構への作用が考えられた。

の作用は、1 型糖尿病モデルでも観察され、さらに肝培養細胞に Activin B を投与することでも観察されるため、インスリンとは独立の肝細胞への直接作用であることが明らかとなった。また、のインスリン感受性亢進の一部には、FGF21 の関与が示唆された。また、および の作用については、ことなる Activin 受容体を介していることが示唆されている。については、培養マクロファージへの Activin B 投与によって、M2 マクロファージマーカーの上昇が認められることが判明した。

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 9 件)

Hashimoto S, Kubota N, Sato H, Sasaki M, Takamoto I, Kubota T, Nakaya K, Noda M, Ueki K and Kadowaki T. Insulin receptor substrate-2 (*irs2*) in endothelial cells plays a crucial role in insulin secretion. **Diabetes** 64:876-886, 2015 DOI: 10.2337/db14-0432 (査読有)

Moller JB, Dalla Man C, Overgaard RV, Ingwersen SH, Tornoe CW, Pedersen M, Tanaka H, Ohsugi M, Ueki K, Lynge J, Vasconcelos NM, Pedersen BK, Kadowaki T and Cobelli C. Ethnic differences in insulin sensitivity, beta-cell function, and

hepatic extraction between Japanese and Caucasians: a minimal model analysis. **J Clin Endocrinol Metab** 99:4273-4280, 2014 DOI: 10.1210/jc.2014-1724 (査読有)

Moller JB, Pedersen M, Tanaka H, Ohsugi M, Overgaard RV, Lynge J, Almind K, Vasconcelos NM, Poulsen P, Keller C, Ueki K, Ingwersen SH, Pedersen BK and Kadowaki T. Body composition is the main determinant for the difference in type 2 diabetes pathophysiology between Japanese and Caucasians. **Diabetes Care** 37:796-804, 2014 DOI: 10.2337/dc13-0598 (査読有)

Takamoto I, Kubota N, Nakaya K, Kumagai K, Hashimoto S, Kubota T, Inoue M, Kajiwara E, Katsuyama H, Obata A, Sakurai Y, Iwamoto M, Kitamura T, Ueki K and Kadowaki T. TCF7L2 in mouse pancreatic beta cells plays a crucial role in glucose homeostasis by regulating beta cell mass. **Diabetologia** 57:542-553, 2014 DOI: 10.1007/s00125-013-3131-6 (査読有)

Awazawa M, Futami T, Sakada M, Kaneko K, Ohsugi M, Nakaya K, Terai A, Suzuki R, Koike M, Uchiyama Y, Kadowaki T and Ueki K. Deregulation of Pancreas-Specific Oxidoreductin ERO1beta in the Pathogenesis of Diabetes Mellitus. **Mol Cell Biol** 34:1290-1299, 2014 DOI: 10.1128/MCB.01647-13 (査読有)

Nakaya K, Kubota N, Takamoto I, Kubota T, Katsuyama H, Sato H, Tokuyama K, Hashimoto S, Goto M, Jomori T, Ueki K and Kadowaki T. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor anagliptin ameliorates diabetes in mice with haploinsufficiency of glucokinase on a high-fat diet. **Metabolism** 62:939-951, 2013 DOI: 10.1016/j.metabol.2013.01.010 (査読有)

Okada-Iwabu M, Yamauchi T, Iwabu M, Honma T, Hamagami K, Matsuda K, Yamaguchi M, Tanabe H, Kimura-Someya T, Shirouzu M, Ogata H, Tokuyama K, Ueki K, Nagano T, Tanaka A, Yokoyama S and Kadowaki T. A small-molecule AdipoR agonist for type 2 diabetes and short life in obesity. **Nature** 503:493-499, 2013 DOI: 10.1038/nature12656 (査読有)

Nio Y, Yamauchi T, Iwabu M, Okada-Iwabu M, Funata M, Yamaguchi M, Ueki K and Kadowaki T. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) deficiency enhances alternatively activated M2 macrophages and ameliorates insulin resistance and fatty liver in lipotrophic diabetic A-ZIP transgenic mice. **Diabetologia** 55:3350-3358, 2012 DOI: 10.1007/s00125-012-2710-2 (査読有)

Shojima N, Hara K, Fujita H, Horikoshi M, Takahashi N, Takamoto I, Ohsugi M, Aburatani H, Noda M, Kubota N, Yamauchi T, Ueki K and Kadowaki T. Depletion of homeodomain-interacting protein kinase 3 impairs insulin secretion and glucose tolerance in mice. **Diabetologia** 55:3318-3330, 2012 DOI: 10.1007/s00125-012-2711-1 (査読有)

〔学会発表〕(計 14 件)

岡崎由希子、岩根亜弥、笹子敬洋、坂田道教、諏訪内浩紹、小林正稔、小林直樹、原一雄、山内敏正、門脇孝、植木浩二郎 Activin/FSTL3による糖代謝制御機構 第29回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会(シンポジウム) 2015年2月 京都

岡崎由希子、岩根亜弥、笹子敬洋、坂田道教、諏訪内浩紹、小林正稔、小林直樹、原一雄、山内敏正、門脇孝、植木浩二郎 ヒト脂肪組織発現解析を用いた病態特異的アディポカインの検索 第29回日本糖尿病合併症学会(口演) 2014年10月 東京

岡崎由希子、岩根亜弥、笹子敬洋、坂田道教、諏訪内浩紹、小林正稔、小林直樹、原一雄、山内敏正、門脇孝、植木浩二郎 ヒト脂肪組織発現解析を用いた病態特異的アディポカインの検索 第19回日本肥満学会主催 アディポサイエンスシンポジウム(ポスター) 2014年8月 大阪

植木浩二郎 第32回内分泌代謝サマーセミナー 肥満と老化に抗して生活習慣病に克つ(招待講演) 2014年7月山梨

岡崎由希子、岩根亜弥、笹子敬洋、坂田道教、諏訪内浩紹、小林正稔、小林直樹、原一雄、山内敏正、吉村浩太郎、光嶋勲、油谷浩幸、門脇孝、植木浩二郎 ヒト脂肪組織発現解析を用いた病態特異的アディポカインの検索 第57回日本糖尿病学会年次学術集会(口演) 2014年5月 大阪

Kohjiro Ueki Molecular Mechanisms involved in obesity-induced diabetes DEBATE 2014 (Special lecture) 2014年1月 インド

Kohjiro Ueki Role of fat World Diabetes Congress 2013 (Symposium) 2013年12月 オーストラリア

岡崎由希子、岩根亜弥、笹子敬洋、坂田道教、諏訪内浩紹、小林正稔、小林直樹、原一雄、山内敏正、門脇孝、植木浩二郎 ヒト脂肪組織発現解析を用いた病態特異的アディポカインの検索 第34回日本肥満学会年次学術集会(口演) 2013年10月 東京

植木浩二郎 肥満症治療の課題と展望 第63回日本体質医学会総会(シンポジウム) 2013年10月福岡

Yukiko Okazaki, Kohjiro Ueki, Aya Iwane, Takayoshi Sasako, Michinori Sakada, Toshihiro Umehara, Hirotsugu Suwanai, Masatoshi Kobayashi, Motoharu Awazawa, Naoki Kobayashi, Kazuo Hara, Matthias Blueher, Takashi Kadowaki The 73rd Scientific Sessions of American Diabetes Association (ポスター) 2013年6月 アメリカ合衆国

岡崎由希子、岩根亜弥、笹子敬洋、坂田道教、諏訪内浩紹、小林正稔、小林直樹、原一雄、山内敏正、吉村浩太郎、光嶋勲、油谷浩幸、門脇孝、植木浩二郎 ヒト脂肪組織発現解析を用いた病態特異的アディポカインの検索 第56回日本糖尿病学会年次学術集会(口演) 2013年5月 熊本

植木浩二郎 成因と病態に基づく糖尿病治療を考える 第62回日本体質医学会総会(シンポジウム) 2012年11月 大阪

岡崎由希子、植木浩二郎、岩根亜弥、笹子敬洋、坂田道教、諏訪内浩紹、小林正稔、小林直樹、原一雄、山内敏正、吉村浩太郎、光嶋勲、油谷浩幸、門脇孝 ヒト脂肪組織発現解析を用いた病態特異的アディポカインの検索 第55回日本糖尿病学会年次学術集会(ポスター) 2012年5月 神奈川

植木浩二郎 2型糖尿病 update-成因と病態 第85回日本内分泌学会総会(教育講演) 愛知

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
<http://dm.umin.jp/dmsd/>
6. 研究組織
(1) 研究代表者

植木 浩二郎 (UEKI, Kohjiro)
東京大学医学部附属病院 特任教授
研究者番号：00396714

(2)研究分担者 なし
()

研究者番号：

(3)連携研究者
岡崎 由希子 (OKAZAKI, Yukiko)
東京大学医学部附属病院 助教
研究者番号：30422299

諏訪内 浩紹 (SUWANAI, Hirotsugu)
東京大学医学部附属病院 助教
研究者番号：60624939

笹子 敬洋 (SASAKO, Takayoshi)
東京大学医学部附属病院 特任助教
研究者番号：20550429

小林 正稔 (KOBAYASI, Masatoshi)
東京大学医学部附属病院 特任助教
研究者番号：30396725