

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 4 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580297

研究課題名(和文) 魚種特異的な脂質蓄積を引き起こすトリアシルグリセロール輸送分子の内分泌制御

研究課題名(英文) Endocrine regulation of triacylglycerol-transporting molecules involved in species-specific lipid accumulation in fish

研究代表者

金子 元 (Kaneko, Gen)

東京大学・農学生命科学研究科・助教

研究者番号：30466809

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、まず主要な蓄積脂質トリアシルグリセロール(TAG)の分布が多様かつ種特異的であることを脂質染色実験で明らかにした。次に、TAGの分布が異なるマダイ、トラフグ、ヒラメ、メダカなどを対象に、血液中の脂質の分析および各種リパーゼの発現解析を行い、筋肉への脂質取り込み量が脂質含量を左右する主要因であることを示した。さらに、肝臓や脂肪組織からの脂質放出が成長ホルモンに制御されていることを、下流のシグナル伝達系を含めて明らかにした。一連の結果および成長ホルモン受容体の発現解析から、当該ホルモンに対する各組織の感受性が魚類の脂質分布様式を決定している可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：In this project, we first determined lipid distribution patterns across 10 species by oil red O staining. The mRNA levels of lipoprotein lipase (LPL) were well associated with the lipid distribution patterns, suggesting that the species-specific lipid distribution was attributed to the differences in lipid incorporation to skeletal muscle. We also characterized hormone-sensitive lipase (HSL), which is involved in lipolysis under fasting conditions, in several fish species. Subsequent *ex vivo* experiments revealed that the expression of LPL and HSL were regulated by growth hormone. Taken together with the species-specific distribution patterns of growth hormone receptor, we proposed a hypothesis that sensitivity to this hormone is a major determinant of lipid distribution patterns in fish.

研究分野：水産化学

キーワード：脂質 リパーゼ 成長ホルモン トラフグ マダイ ヒラメ

1. 研究開始当初の背景

脂質は生体の主要な構成成分の一つで、エネルギーの貯蔵や細胞内シグナル伝達など多くの生命現象に関わっている。魚類の主要な蓄積脂質はトリアシルグリセロール (TAG) で、その貯蔵部位は主に肝臓、筋肉および脂肪組織であるが、脂肪組織をもち、かつ筋肉全体に TAG を蓄えるマダイやニジマス、ほぼ肝臓にのみ TAG を蓄えるトラフグ、また筋肉内の特定の部位に多量の TAG を貯えるヒラメやアユなど、その分布は多様かつ魚種特異的である。筋肉の TAG 含量は魚肉の味や食感、貯蔵特性、加工適性などに大きな影響を及ぼす。そのため、組織特異的な TAG 蓄積の機構を明らかにすることは基礎的にも応用的にも大きな意義がある。

これまでの研究から、肝臓および筋肉の両方に TAG を蓄積するマダイでは、肝臓にのみ蓄積するトラフグよりも両組織間の TAG 輸送に関わる分子群の発現が高いことが明らかとなっている。したがって、筋肉の TAG は肝臓や脂肪組織から輸送されてきたものであり、貯蔵組織からの TAG 放出もしくは筋肉における TAG 取り込みが、筋肉の TAG 含量を左右する可能性が高い。

2. 研究の目的

以上の背景から、本研究では、TAG 輸送に関わる分子およびそれを制御する内分泌系を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

トラフグ、マダイ、ニジマス、ヒラメ、メダカなどを対象に、TAG の放出や取り込みに関わるリパーゼを同定する。さらに、哺乳類の TAG の輸送に関わるとされる成長ホルモンが、これらリパーゼの発現や TAG 輸送に及ぼす影響を調べる。

4. 研究成果

本研究では、まず TAG の分布が多様かつ種特異的であることをオイルレッド O による脂質染色実験で明らかにした (図 1)。TAG の分布は魚種の系統関係を全く反映せず、複数の系統で独自に進化したものと考えられた。



図 1. アユに特徴的な脂質分布様式。

哺乳類では、脂肪細胞は TAG を貯蔵するだけでなく、アディポネクチンなどのホルモンを放出し、代謝を制御する機能をもつ。そこで、魚類脂肪細胞の機能解析の一環として、

ニジマスで内臓脂肪組織の網羅的遺伝子発現解析およびアディポネクチンの発現解析を行った。その結果、アディポネクチンは筋肉中の脂肪細胞で多く発現していることが明らかとなった。この結果は、魚類の内臓脂肪が哺乳類のそれと相同でない可能性を示しており、魚類脂肪組織の進化を考える上で興味深い。

次に、TAG の分布が異なるマダイ、トラフグ、ヒラメ、メダカなどを対象に、血液中の脂質の分析および各種リパーゼの発現解析を行った。筋肉にほとんど TAG を蓄積しないトラフグでも血中に脂質は十分に存在すること (図 2)、しかしながら組織への脂質の取り込みを行うリポタンパク質リパーゼ (LPL) の発現量がトラフグ筋肉では著しく低いことが明らかとなった。また、短期絶食などにより筋肉の TAG 含量を変化させた場合には、TAG 含量と LPL の発現変化に明らかな相関がみられた。以上のことから、LPL の発現量などによって制御される筋肉への TAG 取り込み量が、魚類筋肉の TAG 含量を制御しているものと考えられた。

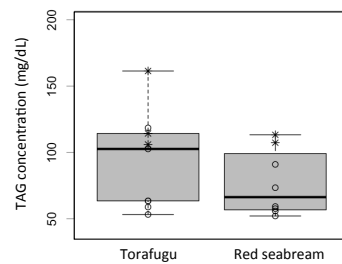


図 2. トラフグおよびマダイの血中 TAG 量。

また、肝臓や脂肪組織からの TAG 放出を制御するホルモン感受性リパーゼ (HSL) を複数の魚種からクローニングした。本遺伝子の転写産物は、ヒラメのエンガワなど脂肪細胞に富む部位に多くみられ (図 3)、遊離脂肪酸の傍分泌などに寄与している可能性が考えられた。

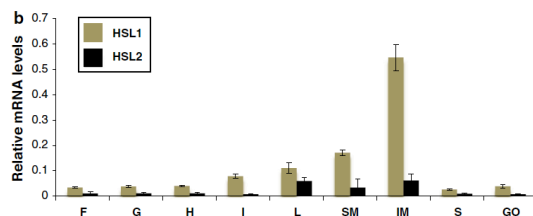


図 3. ヒラメ HSL mRNA の組織分布。F, fin; G, gill; H, heart; I, intestine; L, liver; SM, slow muscle; IM, inclinator muscle of fin; S, skin; GO, gonad.

一般に、魚類は絶食に応答して肝臓や脂肪組織から TAG が血液へ放出され、これが筋

肉に取り込まれてエネルギー源となる。マダイでは、絶食によって肝臓および脂肪組織で HSL の mRNA 量が増大したため、この脂質動員の過程に HSL が関与していることが示唆された。また、魚体の栄養状態によっては脂質の動員が速やかに起こり、結果として筋肉の脂質量が絶食下で一時的に増大することも明らかとなった。この現象は、天然魚を短期蓄養することでより「脂がのった」状態にできる可能性を示しており、応用上の価値が高いと考えられた。

次に、各種リパーゼの発現が成長ホルモン (GH) によって制御されることを、TAG 貯蔵組織の組織培養実験により明らかにした。例えば、マダイの肝臓および脂肪組織では、GH によって HSL の mRNA 量が濃度および時間依存的に増大した。また、GH が脂肪組織からの脂質放出を促進することも確認された。

一方、マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析の結果から、GH はトラフグ肝臓においても脂質放出を促進することが示唆された。しかしながら、トラフグの筋肉は上述のように脂質を取り込む能力が低い。さらに、トラフグでは取り込んだ脂質を TAG として蓄える経路が GH によって阻害されることが示唆されるとともに、筋肉における GH 受容体の発現量が高いことを明らかにした。したがって、本魚種では GH が筋肉への脂質蓄積を阻害する作用を示すものと考えられた。

一連の結果から、魚種特異的な脂質蓄積様式には、TAG 輸送に関わる LPL, HSL および GH などが関わっていることが示唆され、これら分子の機能の一端が明らかとなった。以上の成果は、未知の点が多かった魚類脂質代謝の分子メカニズムを魚種間比較という独創的な手法から明らかにしたもので、基礎および応用の両面から水産業の発展に資するところが大きいと考えられる。

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 8 件)

1. Wang L, Kaneko G, Takahashi SI, Watabe S, Ushio H. Identification and gene expression profile analysis of a major type of lipoprotein lipase in adult medaka *Oryzias latipes*. *Fish Sci*, 81, 163-173, 2015. 査読有
2. Kaneko G, Sawada A, Ushio H, Watabe S. Effects of short-term cold acclimation on

FoF1-ATPase activity in skeletal muscle of red seabream *Pagrus major* (Temminck & Schlegel). *Aquaculture Res*, 45, 1889-1892, 2014. 査読有

3. Feroudj H, Matsumoto T, Kurosu Y, Kaneko G, Ushio H, Suzuki K, Kondo H, Hirono I, Nagashima Y, Akimoto S, Usui K, Kinoshita S, Asakawa S, Kodama M, Watabe S. DNA microarray analysis on gene candidates possibly related to tetrodotoxin accumulation in pufferfish. *Toxicon*, 77, 68-72, 2014. 査読有

4. Khieokhajokhet A, Kaneko G, Ohara K, Shirakami H, Ushio H. Hormone-sensitive lipase in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*: putative function of the inclinor muscle of fin as a lipid storage site. *Fish Sci*, 80, 341-352, 2014. 査読有

5. Han Y, Kaneko G, Nagasaka R, Kondo H, Hirono I, Takahashi SI, Watabe S, Ushio H. Distribution of adipocyte-related cells in skeletal muscle of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Sci*, 79, 143-148, 2013. 査読有

6. Kaneko G, Yamada T, Han Y, Hirano Y, Khieokhajokhet A, Shirakami H, Nagasaka R, Kondo H, Hirono I, Ushio H, Watabe S. Differences in lipid distribution and expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma and lipoprotein lipase genes in torafugu and red seabream. *Gen Comp Endocrinol*, 184, 51-60, 2013. 査読有

7. Yamaguchi H, Nakaya M, Kaneko G, Yoneda C, Mochizuki T, Fukami K, Ushio H, Watabe S. Comparison in taste and extractive components of boiled dorsal muscle and broth from half-smooth golden puffer *Lagocephalus spadiceus* caught in Japan with those of the same fish imported. *Fish Sci*, 79, 327-334, 2013. 査読有

8. Nurilmala M, Ushio H, Kaneko G, Ochiai Y. Assessment of commercial quality evaluation of yellowfin tuna *Thunnus albacares* meat based on myoglobin properties. *Food Sci Tech Res*, 19, 237-243, 2013. 査読有

[学会発表] (計 13 件)

1. 吉永葉月, 金子元, 潮秀樹, 高橋伸一郎, 佐藤秀一. リジン過剰飼料がニジマスの脂質代謝に及ぼす影響. 平成 27 年度日本水産学会秋季大会, 2015 年 3 月 27-31 日, 東京.
2. Wang L, Tan E, Kaneko G, Asakawa S, Watabe S, Ushio H. Tissue-specific regulation of triacylglycerol metabolism during fasting and

re-feeding in medaka. FEBS EMBO 2014, Paris, France. August 30- September 4, 2014.

3. Han Yuna, 金子元, 潮秀樹, 長阪玲子, 近藤秀裕, 廣野育生. γ オリザノールの経口投与がニジマスのエネルギー代謝に及ぼす影響. 平成 26 年度日本水産学会春季大会, 2014 年 3 月 27-31 日, 北海道.

4. Wang L, Tan E, Kaneko G, Asakawa S, Ushio H, Takahashi SI, Watabe S. Comprehensive analysis of the gene expression patterns in muscle and liver of medaka during fasted and re-fed states. 平成 26 年度日本水産学会春季大会, 2014 年 3 月 27-31 日, 北海道.

5. 長阪玲子, 針ヶ谷敦子, 近藤秀裕, 廣野育生, 金子元, 潮秀樹. 魚類筋タンパク質の分解に関する研究. 平成 26 年度日本水産学会春季大会, 2014 年 3 月 27-31 日, 北海道.

6. 平野雪, 金子元, 潮秀樹. トラフグ筋肉における成長ホルモンシグナルの解析. 第 36 回日本分子生物学会年会, 2013 年 12 月 3-6 日, 神戸.

7. 金子雄亮, 金子元, 潮秀樹. トラフグ転写因子 FoxO1 の局在制御機構および標的遺伝子に関する研究. 第 36 回日本分子生物学会年会, 2013 年 12 月 3-6 日, 神戸.

8. Khieokhajokhet A, Kaneko G, Ushio H. Tissue distribution of lipid and transcript of hormone-sensitive lipase in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. 平成 25 年度日本水産学会秋季大会, 2013 年 9 月 19-22 日, 三重.

9. 平野雪, 金子元, 吉永葉月, 潮秀樹. トラフグおよびマダイにおける組織および血清リポタンパク質の TAG 含量の比較. 平成 25 年度日本水産学会秋季大会, 2013 年 9 月 19-22 日, 三重.

10. 大場萌未, 金子元, 潮秀樹, 高橋伸一郎. 魚類の脂質代謝を制御するアミノ酸に関する研究. 平成 25 年度日本水産学会秋季大会, 2013 年 9 月 19-22 日, 三重.

11. 大原和幸, 金子元, 潮秀樹, 高橋伸一郎. 魚類における TOR シグナリングに影響を及ぼすアミノ酸に関する研究. 平成 25 年度日本水産学会秋季大会, 2013 年 9 月 19-22 日, 三重.

12. Han Y, Kaneko G, Kondo H, Hirono I, Nagasaka R, Watabe S, Ushio H. Distribution of adipocyte in muscle of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. 22nd IUBMB & 37th FEBS Congress, Sevilla, Spain. September 6, 2012.

13. Hirano Y, Kaneko G, Matsumoto T, Ushio H. Functional analyses of recombinant torafugu growth hormone in lipid metabolism. 22nd IUBMB & 37th FEBS Congress, Sevilla, Spain. September 6, 2012.

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

名称: 飼育魚類の筋肉内脂質含量増加方法及びそのための飼料

発明者: 大場萌未, 吉永葉月, 潮秀樹, 金子元, 高橋伸一郎, 佐藤秀一

権利者: 東京大学, 東京海洋大学

種類: 特許

番号: PCT/JP2014/001466

出願年月日: 2014 年 3 月 14 日

国内外の別: 国外

○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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

金子元 (KANeko, Gen)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・助教
研究者番号: 30466809

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

近藤 秀裕 (KONDO, Hidehiro)

東京海洋大学・海洋科学技術研究科・准教授
研究者番号: 20314635