

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24700829

研究課題名(和文)小胞体ストレス応答制御因子 ATF6 を介した生活習慣病発症機構の解明

研究課題名(英文)Role of endoplasmic reticulum stress transducer ATF6 on lifestyle-related disease

研究代表者

親泊 美帆 (OYADOMARI, MIHO)

徳島大学・疾患プロテオゲノム研究センター・特任助教

研究者番号：00596158

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000 円、(間接経費) 1,020,000 円

研究成果の概要(和文)：小胞体は細胞内タンパク質や脂質合成の場であり、小胞体機能異常(小胞体ストレス)で肥満や糖尿病などの生活習慣病を発症することをこれまでに報告してきた。本研究は、生活習慣病発症におけるATF6を介した小胞体ストレス応答の役割を明らかにすることを目的とした。そこで、ATF6 ノックアウトマウスとATF6 ノックアウトマウスを用いて、食事因子による代謝制御におけるATF6の生理的な役割の解明と食事因子による生活習慣病発症におけるATF6の病理的な意義の解明を行った。その結果、ATF6 欠損は小胞体でのタンパク質恒常性に影響がないにも関わらず、食事による肥満に抵抗性を示すことを新たに見出した。

研究成果の概要(英文)：Endoplasmic reticulum (ER) is an organelle where secretory proteins and lipids are synthesized. We have previously reported that ER dysfunction leads to onset of lifestyle-related disease such as obesity and diabetes. In this study, we aim to elucidate the role of ATF6-mediated ER stress response on the onset of lifestyle-related disease. We studied the physiological functions of ATF6 on nutrient-regulated metabolism and the pathological function of ATF6 on nutrient-triggered lifestyle-related disease using ATF6alpha knockout mice and ATF6beta knockout mice. Although ATF6beta knockout did not affect ER protein homeostasis, we found that ATF6beta knockout showed resistant against diet-induced obesity.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：小胞体 ストレス ATF6 食事因子

1. 研究開始当初の背景

糖尿病や脂質異常症などの急速に増加する生活習慣病は、食生活の変化が主因の一つと考えられている。日本人の総カロリー摂取量は昭和 50 年頃をピークに減少しているが、動物性タンパク質と動物性脂質の割合は逆に増加している。このことから食品成分の質が、生活習慣病の発症に影響すると考えられるが、その分子メカニズムは不明である。

小胞体は、その内部環境の変化（小胞体ストレス）を感知して、それに適応する機構（小胞体ストレス応答）を持つ。ATF6 は応答メカニズムにおいて中心的な役割を果たすことが、本研究で用いる ATF6 ノックアウトマウスですでに証明されている（**Developmental Cell (2007) 13 365-376**）。

本研究では、未だ明らかでない食事因子による生活習慣病発症における ATF6 を介した小胞体ストレス応答の役割を明らかにする。

2. 研究の目的

申請者は、これまでに遺伝子改変マウスの解析により、代謝制御における小胞体ストレス応答の生理的あるいは病理的役割について、研究を行ってきた。小胞体ストレス応答経路には IRE1, PERK, ATF6 の 3 つの経路がある。申請者は、IRE1 β 経路は小腸でのカイロミクロンの形成に必要であることを見出し（**Cell Metabolism (2008) 7 445-455**）、また PERK 経路は肝臓での糖新生や脂肪合成制御に影響すること（**Cell Metabolism (2008) 7 520-532**）を見出した。3 つの小胞体ストレス応答経路が異なるメカニズムで代謝制御に関わることを見出してきたことから、ATF6 も代謝制御に関与しているのではないかと考え、本研究を開始するに至った。

3. 研究の方法

本研究では、小胞体ストレス応答を司る ATF6 に着目することで、小胞体からのシグナルがどのように摂食による代謝調節に統合されているかを明らかにし、さらに食事因子によって惹起される生活習慣病での ATF6 の病理的な意義を明らかにする。具体的にはすでに樹立している ATF6 α と ATF6 β のノックアウトマウスを用いて以下の研究項目を計画している。

(1) 食事因子による代謝制御における ATF6 の生理的な役割の解明

食事因子による代謝変化と ATF6 活性化の関係を明らかにし、その結果を基に ATF6 ノックアウトマウスを用いて食事因子による代謝制御における ATF6 の生理的な役割を解明する。

(2) 食事因子による生活習慣病発症における ATF6 の病理的な意義の解明

生活習慣病の病態モデルを ATF6 ノックアウトマウスで作成して、食事因子による生活習慣病発症における ATF6 の病理的な意義を解明する。

4. 研究成果

平成24年度は、食事因子による代謝変化における ATF6 の生理的な役割について、ATF6 ノックアウトマウスを用いた以下の2つの解析を行った。

(1) 食事変化による代謝環境変化による小胞体ストレスの測定

肝臓、脂肪、骨格筋、腸管(4つの臓器が糖・脂質代謝で中心的に働くため)にて、高タンパク食、高糖質食、高脂肪食の食事条件で正常マウスにおける小胞体ストレスを生化学的方法にて測定した。次に、ウェスタンブロットで ATF6 の活性化を測定、RT-PCR で XBP1 の スプライシングを測定、ウェスタンブロットで PERK のリン酸化を測定した。

(2) ATF6 ノックアウトマウスでの糖・脂質代謝の測定

ATF6 α -/-マウス、ATF6 β -/-マウス、ATF6 α +/-:ATF6 β -/-マウス、ATF6 α -/-:ATF6 β +/-マウスにおいて生理学的検査(体長、体重、食事摂取量、代謝率など)、血液生化学検査(早朝血糖値の推移、中性脂肪、遊離脂肪酸、コレステロール、クレアチンキナーゼなど)、ブドウ糖負荷試験(ipGTT)とインスリン負荷試験(ITT)、組織染色、免疫染色による脂肪サイズやマクロファージ活性化、マイクロCT、また、薄層クロマトグラフィーにて脂肪酸やリン脂質の変動の解析を行い、比較した。

平成25年度は、前年度に得られた詳細な表現型の解析結果を基に、野生型マウス、ATF6 α -/-マウス、ATF6 β -/-マウス、ATF6 α +/-:ATF6 β -/-マウス、ATF6 α -/-:ATF6 β +/-マウスで病態モデルを作製し比較解析を行い、食事因子による生活習慣病発症における ATF6 の病理的な意義の解明を目指し、病態モデルでの ATF6 の病態生理的な意義の解明を行った。

た。また、食事因子による生活習慣病発症におけるATF6の病理的な意義を明らかにするために、肥満モデル（高カロリー食負荷肥満モデル）、糖尿病モデル（STZ投与糖尿病モデル）、脂肪肝モデル（高脂肪食負荷脂肪肝モデル）の3つ病態モデルを作製し、生理学的解析項目および生化学的解析項目の表現型項目について野生型とATF6ノックアウトマウスでの比較解析を行った。その結果、ATF6 β -/- マウスは野生型マウスやATF6 α -/- マウスと比べて、食餌誘導性の肥満になりにくいことがわかった。図1,2,3に示すとおり、小胞体分子シャペロンの誘導にはATF6 α が必須で、ATF6 β は欠失しても問題ないが、このような表現型を得たことから、ATF6 β 特異的に制御される機構の存在が示唆された。

図1 High Fat Dietでの内臓脂肪・皮下脂肪はATF6 β KOマウスで顕著に少ない

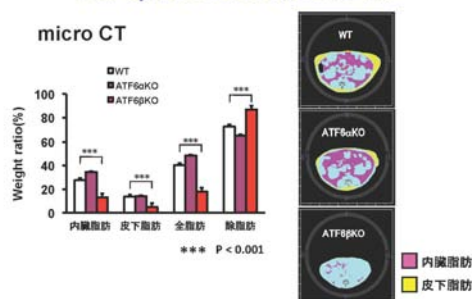


図2 ATF6 β KOマウスの脂肪細胞の大きさは顕著に小さい

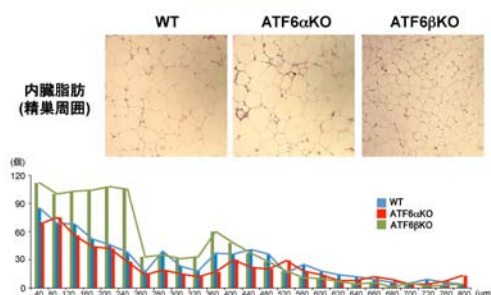
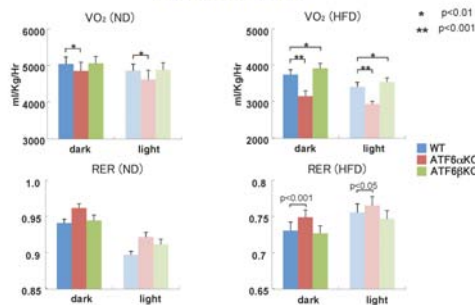


図3 ATF6 β KOマウスはWTマウスと比べて基礎代謝が高い



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 0 件)

該当なし

[学会発表] (計 18 件)

- ① 野村 明利、三宅 雅人、小倉 淳、森智子、津川 和江、宮本 千伸、親泊 美帆、親泊 政一 小胞体ストレスなどにより活性化される eIF2 α リン酸化シグナルによる脂肪細胞機能調節の解明
第 86 回日本生化学会大会 2013/9/12 神奈川県 (パシフィコ横浜)
- ② 倉橋 清衛、森 智子、野村 明利、小倉 淳、津川 和江、宮本 千伸、三宅 雅人、親泊 美帆、松本 俊夫、親泊 政一 飽和脂肪酸は小胞体膜の流動性低下による PERK 経路の活性化を介して膵 β 細胞におけるインスリン分泌を低下させる
第 86 回日本生化学会大会 2013/9/12 神奈川県 (パシフィコ横浜)
- ③ 高原 一菜、三宅 雅人、野村 明利、小倉 淳、親泊 美帆、森 智子、宮本 千伸、三浦 直子、津川 和江、田中 栄二、森 和俊、親泊 政一 小胞体ストレス応答伝達タンパク質 ATF6a と ATF6b の代謝における役割
第 86 回日本生化学会大会 2013/9/12 神奈川県 (パシフィコ横浜)
- ④ 三宅 雅人、野村 明利、小倉 淳、高原 一菜、佐藤 亮祐、倉橋 清衛、親泊 美帆、井上 寛、親泊 政一 骨格筋での小胞体ストレスなどからの eIF2 α リン酸化は Fgf21 発現を誘導しエネルギー消費の増加によって食事性肥満を防ぐ
第 86 回日本生化学会大会 2013/9/11 神奈川県 (パシフィコ横浜)
- ⑤ 三宅 雅人、野村 明利、小倉 淳、高原 一菜、佐藤 亮祐、倉橋 清衛、親泊 美帆、井上 寛、親泊 政一 骨格筋における小胞体ストレスなどによる eIF2 α リン酸化は Fgf21 を介したエネルギー消費の増加によって食事性肥満を防ぐ
第 31 回内分泌代謝学サマーセミナー 2013/7/12 大分県 (ゆふいん山水館)
- ⑥ 三宅 雅人、野村 明利、高原 一菜、小倉 淳、佐藤 亮祐、倉橋 清衛、親泊 美帆、井上 寛、親泊 政一 骨格筋における小胞体ストレスなどによる eIF2 α リン酸化は全身のエネルギー消費を増加させて肥満を抑制する
第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会 2013/5/18 熊本県 (熊本ホテルキャッスル)
- ⑦ 野村 明利、三宅 雅人、井上 寛、小倉 淳、森 智子、津川 和江、宮本 千伸、親泊 美帆、親泊 政一 小胞体ストレスなど

により活性化される PERK-eIF2 α リン酸化シグナルによる脂肪細胞機能調節の解明

第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会 2013/5/17 熊本県(熊本ホテルキャッスル)

- ⑧ 倉橋 清衛、三浦 直子、宮本 千伸、津川 和江、森 智子、入江 美保、三宅 雅人、小倉 淳、松本 俊夫、親泊 政一 膵 β 細胞における飽和脂肪酸による脂肪毒性に小胞体膜流動性の低下と PERK 経路が影響する 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会 2013/5/17 熊本県(熊本ホテルキャッスル)
- ⑨ 親泊 政一、伊藤太 二、森 智子、倉橋 清衛、佐藤 亮祐、宮本 千伸、三浦 直子、津川 和江、親泊 美帆、森 和俊 miRNA を介した小胞体ストレス応答はグルコース応答性インスリン分泌に重要である 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会 2013/5/17 熊本県(熊本ホテルキャッスル)
- ⑩ 野村 明利、三宅 雅人、井上 寛、小倉 淳、森 智子、津川 和江、宮本 千伸、親泊 美帆、親泊 政一 小胞体ストレスなどにより活性化される PERK-eIF2 α リン酸化シグナルによる脂肪細胞機能調節の解明 第 85 回 日本生化学会大会 2012/12/16 福岡県(福岡国際会議場)
- ⑪ 高原 一菜、伊藤 太二、森 智子、ロバート ゼング、船橋 茉莉、宮本 千伸、香川 聖子、三宅 雅人、親泊 美帆、津川 和江、田中 栄二、森 和俊、親泊 政一 DSS 誘発性大腸炎モデルを用いた ATF6 α と ATF6 β の機能解析 第 85 回 日本生化学会大会 2012/12/16 福岡県(福岡国際会議場)
- ⑫ 三宅 雅人、野村 明利、高原 一菜、佐藤 亮祐、倉橋 衛、親泊 美帆、井上 寛、親泊 政一 骨格筋における小胞体ストレスなどからの eIF2 α リン酸化はエネルギー消費を制御して食事性肥満を防ぐ 第 85 回 日本生化学会大会 2012/12/16 福岡県(福岡国際会議場)
- ⑬ 三宅 雅人、野村 明利、高原 一菜、佐藤 亮祐、倉橋 清衛、親泊 美帆、井上 寛、親泊 政一 骨格筋での小胞体ストレスなどによる eIF2 α リン酸化はエネルギー消費を増大させて肥満を抑制する 第 24 回 分子糖尿病学シンポジウム 2012/12/8 東京都(品川インターナショナル)
- ⑭ 三宅 雅人、野村 明利、高原 一菜、佐藤 亮祐、倉橋 清衛、親泊 美帆、井上

寛、親泊 政一 骨格筋での小胞体ストレスなどによる eIF2 α リン酸化はエネルギー消費を増大させて肥満を抑制する 第 7 回臨床ストレス応答学会大会 2012/11/24 東京都(東京女子医科大学)

- ⑮ 三宅 雅人、野村 明利、高原 一菜、小倉 淳、佐藤 亮祐、倉橋 清衛、親泊 美帆、井上 寛、親泊 政一 骨格筋での小胞体ストレスなどからの eIF2 α リン酸化によるエネルギー消費の制御と抗肥満作用 第 7 回小胞体ストレス研究会 2012/11/24 広島県(広島大学)
- ⑯ 親泊 政一、伊藤 太二、森 智子、Zheng Robert、佐藤 亮祐、倉橋 清衛、船橋 茉莉、宮本 千伸、三浦 直子、津川 和江、親泊 美帆 miRNA を介した小胞体ストレス応答はグルコース応答性のインスリン分泌に重要である 第 55 回日本糖尿病学会学術集会 2012/5/19 神奈川県(パシフィコ横浜)
- ⑰ 倉橋 清衛、伊藤 太二、野村 明利、宮本 千伸、津川 和江、森 智子、親泊 美帆、松本 俊夫、親泊 政一 膵 β 細胞におけるグルコース応答性インスリン分泌低下に小胞体膜の流動性変化と小胞体ストレス応答が影響する 第 55 回日本糖尿病学会学術集会 2012/5/17 神奈川県(パシフィコ横浜)
- ⑱ 伊藤 太二、森 智子、Robert Zheng、船橋 茉莉、佐藤 亮祐、倉橋 清衛、宮本 千伸、三浦 直子、津川 和江、親泊 美帆、親泊 政一 miRNA を介した小胞体ストレス応答はグルコース応答性インスリン分泌に影響する 第 85 回日本内分泌学会学術総会 2012/4/19 愛知県(名古屋国際会議場)

〔図書〕(計 0 件)

該当なし

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

該当なし

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)

該当なし

名称：

発明者：
権利者：
種類：
番号：
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

親泊 美帆 (Miho Oyadomari)
徳島大学・疾患プロテオゲノム研究センター・特任助教
研究者番号：00596158

(2) 研究分担者

該当者なし

(3) 連携研究者

該当者なし