

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461401

研究課題名(和文) BMP-3bの新たなアディポサイトカインとしての機能およびその病態生理学的役割

研究課題名(英文) Analysis of physiological and pathological function of BMP-3b acts as novel adipocytokine

研究代表者

日野 純 (Hino, Jun)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・室長

研究者番号：40260351

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：BMP-3bは、脂肪組織にも多く発現しているが、そこでの機能は不明であった。これまでの検討で、BMP-3bの脂肪細胞分化抑制作用を見出し、次いでBMP-3bのin vivoでの検討の為、脂肪組織特異的過剰発現マウス(Tg)を作製し、Tgの抗肥満作用やエネルギー消費亢進作用を見出した。脂肪組織では、PPAR α 及びPPAR γ の標的因子である脂肪酸トランスポーター(FAT/CD36)が抑制されており、脂肪酸取り込み量の減少による抗肥満作用が示唆された。また、エネルギー消費亢進作用については、Tgでは、褐色脂肪組織の活性化及び活動量の増加に起因することが示された。

研究成果の概要(英文)：Although BMP-3b is highly expressed in adipose tissues, its functions were yet to be clarified. We showed that BMP-3b inhibited adipogenesis in cultured adipocytes. We generated adipose tissue specific BMP-3b transgenic mice (Tg) to examine BMP-3b functions in vivo. Tg mice exhibited anti-obesity effect and increased energy expenditure. We found that PPAR α and its target gene fatty acid translocase (FAT/CD36) were suppressed in Tg mice, indicating that suppression of translocation of fatty acid into adipocytes led to prevention of obesity. We also showed that enhanced BAT function and locomotor activity, which might cause increased energy expenditure.

研究分野：内分泌・代謝

キーワード：肥満 BMP-3b 脂肪細胞 エネルギー消費 PPAR

1. 研究開始当初の背景

脂肪組織からは、アディポネクチンなど多彩な生理活性物質(アディポサイトカイン)が分泌され、内分泌系の調節に重要な役割を果たしている。近年、社会問題にもなっているメタボリックシンドロームにおいては、このアディポサイトカインが様々な局面で作用し、これが直接的な成因の一つであると考えられている。しかし、脂肪細胞には、まだなお機能不明な分泌タンパク質が多く存在していることが報告されており、実際にもここ数年、新しい因子の発見が続いている。一方、私達は、これまでの研究で、「骨組織中に存在する骨代謝調節に関与する未知のタンパク質性の分化・増殖因子の探索研究」を遂行し、その結果、TGF- β スーパーファミリーに属するBMP-3bと命名したタンパク質を発見した(1、2)。その後の研究により、BMP-3bが骨芽細胞分化抑制作用、初期胚発生過程における脳・神経系(頭部形成)に必須の内在性因子であることを証明した(3、4)。更に、長い間不明だったBMP-3bの受容体及び細胞内情報伝達系路を解明したことで(5)、BMP-3b機能解析研究が大きく発展することが期待されている。

私達は、BMP-3bが骨組織や初期胚発生過程だけでなく、脂肪組織にも高いレベルで発現していることを見出していたが、そこでの機能は不明のままであった。近年、BMP-3bが血液中にも存在していることも解明されたことから、BMP-3bが新たな内分泌性因子として機能し、生理学的、病態生理学的にも重要な因子であることがわかってきた。実際、これまでに、BMP-3bの心・血管系における病態との関連性を明らかにしている。その後の検討により、肥満モデルマウスの脂肪組織においては、BMP-3bの発現が顕著に上昇しているという興味深い結果も得たことから、BMP-3bの脂肪組織における新たな機能や病態生理学的役割に着目し、本研究に着手した。

2. 研究の目的

これまでの研究により、培養細胞系におけるBMP-3bの脂肪細胞分化抑制作用を明らかにしたが(6)、動物個体レベルでの生理作用やその作用機序については不明であった。そこで本研究では、動物個体での機能解析を目的とする。具体的には、BMP-3b Tg、ノックアウトマウスや各種病態モデル動物を用いた検討を行い、最終的にはヒト組織での解析へ展開する。そこで、これらマウスを用いBMP-3bの病態生理学的役割を明らかにすることにより、臨床応用研究への基盤となる成果を得る。これらの検討と同時に、培養細胞系におけるBMP-3bの分化抑制作用のメカニズム解明のため、BMP-3bの細胞内情報伝達系の全体像を明らかにする。最終的には、これら*in vivo*、*in vitro*両面からの結果を総合的に解析することにより、BMP-3bの脂肪組織における機能の全貌解明に繋げる。

3. 研究の方法

本研究では、BMP-3bの脂肪組織における機能を、動物個体レベルで検討し、生理作用や病態生理学的役割を解析する。具体的には、BMP-3b遺伝子改変動物を用い動物個体レベルでの生理作用、病態生理作用の解明を行う。

4. 研究成果

BMP-3bの脂肪組織における機能を動物個体レベルで検討する為、脂肪組織特異的過剰発現マウス(aP2-BMP-3b Tg)を作製した。まず、aP2-BMP-3b Tg(Tg)の、高脂肪食時における脂肪組織量減少を伴う抗肥満作用や耐糖能改善作用、及びエネルギー消費亢進作用を見出した。次に、これらの作用機序の検討を行った。その結果、内臓脂肪組織において、Tgでは、野生型と比較してPPAR α が減少し、*in vitro*での作用同様の脂肪細胞分化への関与が示された。更にPPAR α の標的因子である脂肪酸トランスポーター(FAT/CD36)が抑制されており、Tgにおける脂肪細胞への脂肪酸取り込み量の減少による脂肪組織量減少作用が示唆された。また、エネルギー消費亢

進作用については、Tg では、摂餌量が増加しているものの、褐色脂肪組織の活性化及び活動量の増加に起因することが示された。一方、BMP-3b は、内在性に脳に発現しており、エネルギー代謝制御における BMP-3b の中枢性作用にも着目した。Tg において、BMP-3b は、脂肪組織だけでなく脳でも発現が上昇し、エネルギー代謝調節の主要部位である視床下部でも発現が増加していたことから、BMP-3b の新たな中枢性作用が示唆された。

< 引用文献 >

Hino J, Takao M, Takeshita N, Konno Y, Nishizawa T, Matsuo H, Kangawa K.

cDNA cloning and genomic structure of human bone morphogenetic protein-3B (BMP-3b).

Biochem Biophys Res Commun, 223, 304-310, 1996

Takao M, Hino J, Takeshita N, Konno Y, Nishizawa T, Matsuo H, Kangawa K.

Identification of rat bone morphogenetic protein-3b (BMP-3b), a new member of

BMP-3. Biochem Biophys Res Commun, 219, 656-662, 1996

Hino J, Kangawa K, Matsuo H, Nohno T, Nishimatsu S.

Bone morphogenetic protein-3 family members and their biological functions.

Front Biosci, 9, 1520-1529, 2004, Review

Hino J, Nishimatsu S, Nagai T, Matsuo H, Kangawa K, Nohno T.

Coordination of BMP-3b and cerberus is required for head formation of *Xenopus* embryos.

Dev Biol, 260,138-157, 2003

Matsumoto Y, Otsuka F, Hino J, Miyoshi T, Takano M, Miyazato M, Makino H, Kangawa K.

Bone morphogenetic protein-3b (BMP-3b) inhibits osteoblast differentiation via Smad2/3 pathway by counteracting Smad1/5/8 signaling.

Mol Cell Endocrinol, 350,78-86, 2012

Hino J, Miyazawa T, Miyazato M, Kangawa K.

Bone morphogenetic protein-3b (BMP-3b) is expressed in adipocytes and inhibits adipogenesis as a unique complex.

Int J Obes (Lond), 36,725-734, 2012

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 14 件)

1. Kimura T, Nojiri T, Hino J, Hosoda H, Miura K, Shintani Y, Inoue M, Zenitani M, Takabatake H, Miyazato M, Okumura M, Kangawa K.

C-type natriuretic peptide ameliorates pulmonary fibrosis by acting on lung fibroblasts in mice.

Respir Res;17:19, 2016、査読有、

DOI: 10.1186/s12931-016-0335-6

2. Nakahara K, Akagi A, Shimizu S, Tateno S, Qattali AW, Mori K, Miyazato M, Kangawa K, Murakami N.

Involvement of endogenous neuromedin U and neuromedin S in thermoregulation.

Biochem Biophys Res Commun, 470, 930-935, 2016、査読有、

DOI:10.1016/j.bbrc.2016.01.155.

3. Zenitani M, Nojiri T, Uehara S, Miura K, Hosoda H, Kimura T, Nakahata K, Miyazato M, Okuyama H, Kangawa K.

C-type natriuretic peptide in combination with sildenafil attenuates proliferation of rhabdomyosarcoma cells.

Cancer Med, 5,795-805, 2016、査読有、

DOI: 10.1002/cam4.642.

4. Kimura T, Nojiri T, Hosoda H, Shintani Y, Inoue M, Miyazato M, Okumura M, Kangawa K.

Exacerbation of bleomycin-induced injury by lipopolysaccharide in mice: establishment of a mouse model for acute exacerbation of interstitial lung diseases.

Eur J Cardiothorac Surg, 48, e85-91, 2015、

査読有、

DOI:10.1093/ejcts/ezv261

5. Gotoh Y, Kita S, Fujii M, Tagashira H, Horie I, Arai Y, Uchida S, Iwamoto T.

Genetic knockout and pharmacologic inhibition of NCX2 cause natriuresis and hypercalciuria.

Biochem Biophys Res Commun, 456, 670-675,2015、査読有、

DOI:10.1016/j.bbrc.2014.12.016.

6. Du Q, Hosoda H, Umekawa T, Kinouchi T, Ito N, Miyazato M, Kangawa K, Ikeda T.

Postnatal weight gain induced by overfeeding pups and maternal high-fat diet during the lactation period modulates glucose metabolism and the production of

pancreatic and gastrointestinal peptides. Peptides, 70, 23-31, 2015、査読有、

DOI:10.1016/j.peptides.2015.05.003

7. Kimura T, Nojiri T, Hosoda H, Ishikane S, Shintani Y, Inoue M, Miyazato M, Okumura M, Kangawa K.

C-type natriuretic peptide attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice.

J Surg Res, 194, 631-637, 2015、査読有、

DOI: 10.1016/j.jss.2014.11.023.

8. Nojiri T, Hosoda H, Tokudome T, Miura K, Ishikane S, Otani K, Kishimoto I, Shintani Y, Inoue M, Kimura T, Sawabata N, Minami M, Nakagiri T, Funaki S, Takeuchi Y, Maeda H, Kidoya H, Kiyonari H, Shioi G, Arai Y, Hasegawa T, Takakura N, Hori M, Ohno Y, Miyazato M, Mochizuki N, Okumura M, Kangawa K.

Atrial natriuretic peptide prevents cancer metastasis through vascular endothelial cells.

Proc Natl Acad Sci U S A,112, 4086-4091, 2015、査読有、

DOI:10.1073/pnas.1417273112.

9. Tokudome T, Kishimoto I, Miyazato M, Kangawa K.

Ghrelin and the cardiovascular system.

Front Horm Res, 43:125-133, 2014、査読有、
DI: 10.1159/000360593.

10. Horii T, Arai Y, Yamazaki M, Morita S, Kimura M, Itoh M, Abe Y, Hatada I.

Validation of microinjection methods for generating knockout mice by CRISPR/Cas-mediated genome engineering.

Sci Rep, 4, 4513, 2014、査読有、

DOI:10.1038/srep04513.

11. Morita S, Horii T, Kimura M, Arai Y, Kamei Y, Ogawa Y, Hatada I.

Paternal allele influences high fat diet-induced obesity.

PLoS One, 9,e85477, 2014、査読有、

DOI: 10.1371/journal.pone.0085477.

12. Mao Y, Tokudome T, Kishimoto I, Otani K, Hosoda H, Nagai C, Minamino N, Miyazato M, Kangawa K.

Hexarelin treatment in male ghrelin knockout mice aftermyocardial infarction.

Endocrinology, 154, 3847-3854, 2013、査読有、
DOI:10.1210/en.2013-1291

13. Kaiya H, Kangawa K, Miyazato M. Ghrelin receptors in non-Mammalian vertebrates.

Front Endocrinol (Lausanne), 4, 81, 2013、査読有、

DOI:10.3389/fendo.2013.00081.

14. Akieda-Asai S, Sugiyama M, Miyazawa T, Koda S, Okano I, Senba K, Poleni PE, Hizukuri Y, Okamoto A, Yamahara K, Mutoh E, Aoyama F, Sawaguchi A, Furuya M, Miyazato M, Kangawa K, Date Y.

Involvement of guanylin and GC-C in rat mesenteric macrophages in resistance to a high-fat diet.

J Lipid Res, 54,85-96, 2013、査読有、

DOI: 10.1194/jlr.M029017

〔学会発表〕(計 10 件)

1. 第 19 回日本心血管内分泌代謝学会、2015 年 12 月、神戸
「BMP-3b の新たなアディポサイトカインとしての抗肥満作用」
日野 純、中谷 直史、荒井 勇二、土田 邦博、宮里 幹也、寒川 賢治
2. 第 36 回日本肥満学会、2015 年 10 月、名古屋
「抗肥満作用を示す BMP-3b 過剰発現マウスの作用機序の検討」
日野 純、中谷 直史、荒井 勇二、土田 邦博、宮里 幹也、寒川 賢治
3. 第 88 回日本生化学会大会、第 38 回日本分子生物学会、合同大会、2015 年 12 月、神戸
「抗肥満・エネルギー消費亢進作用を示す BMP-3b 過剰発現マウスの作用機序の検討」
日野 純、中谷 直史、荒井 勇二、土田 邦博、宮里 幹也、寒川 賢治
4. 第 35 回日本肥満学会、2014 年 10 月、宮崎
「BMP-3b の新たなアディポカインとしての脂肪細胞機能制御と抗肥満作用」
日野 純、中谷 直史、荒井 勇二、土田 邦博、宮里 幹也、寒川 賢治
5. 第 87 回日本生化学会大会、2014 年 10 月、京都
「抗肥満作用を有する BMP-3b 過剰発現マウスにおける脂肪細胞機能の解析」
日野 純、中谷 直史、荒井 勇二、土田 邦博、宮里 幹也、寒川 賢治
6. 10th International Conference on Bone Morphogenetic Proteins, September 16-20, 2014, Berlin, Germany
Chair in session “BMPs In Metabolism” at the conference.
- 6-1, “Overexpression of BMP-3b in adipose tissue prevents high-fat diet induced obesity with alteration of energy metabolism.”

- Jun Hino, Masashi Nakatani, Yuji Arai,
Kunihiro Tsuchida, Mikiya Miyazato,
Kenji Kangawa
- 6-2, “Regulation of adipogenesis by BMP-3b in human rotator cuff derived cells”,
Atsuyuki Inui; Jun Hino; Takeshi Kokubu;
Yutaka Mifune; Mikiya Miyazato; Kenji Kangawa
7. 第 28 回日本糖尿病・肥満動物学会 年次学術集会、2014 年 2 月、宮崎
「Bone morphogenetic protein-3b (BMP-3b) の新たな機能としての抗肥満作用」
シンポジスト (招待)
日野 純、宮里 幹也、寒川 賢治
8. 第 34 回日本肥満学会、2013 年 10 月、東京
「BMP-3b の新規アディポカインとしての機能：過剰発現マウスによる抗肥満作用および代謝解析」
日野 純、中谷 直史、荒井 勇二、宮澤 崇、吉本 光佐、白井 幹康、土田 邦博、宮里 幹也、寒川 賢治
9. 第 86 回日本生化学会大会、2013 年 9 月、横浜
「抗肥満作用を示す BMP-3b 過剰発現マウスの機能解析及び脂肪細胞における BMP-3b の遺伝子発現調節」
日野 純、中谷 直史、荒井 勇二、宮澤 崇、吉本 光佐、白井 幹康、土田 邦博、宮里 幹也、寒川 賢治
10. 第 18 回アディポサイエンス・シンポジウム、2013 年 8 月、大阪
「Bone morphogenetic protein-3b (BMP-3b) の新たなアディポカインとしての機能」、シンポジスト (招待)
日野 純、宮澤 崇、宮里 幹也、寒川 賢治
〔その他〕
ホームページ等
<http://www.ncvc.go.jp/res/divisions/biochemistry/>
6 . 研究組織

(1)研究代表者

日野 純 (HINO, Jun)

国立循環器病研究センター・研究所・室長

研究者番号：40260351

(2)研究分担者

宮里 幹也 (MIYAZATO, Mikiya)

国立循環器病研究センター・研究所・部長

研究者番号：50291183

荒井 勇二 (ARAI, Yuji)

国立循環器病研究センター・研究所・室長

研究者番号：30202724

(3)連携研究者

寒川 賢治 (KANGAWA, Kenji)

国立循環器病研究センター・研究所・所長

研究者番号：00112417