

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 6 日現在

機関番号：34512

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25860045

研究課題名(和文) 抗肥満薬開発の標的としての新規分泌性因子Neudesin

研究課題名(英文) A novel secretory protein neudesin as a target for anti-obesity drug

研究代表者

太田 紘也(Ohta, Hiroya)

神戸薬科大学・薬学部・研究員

研究者番号：40638988

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者は研究期間内に以下の成果を得た。分泌性因子Neudesinの遺伝子欠損マウス(以下KOマウス)は肥満を誘導する餌を与えても太りにくかった。その背景として餌を食べる量や脂質の吸収に変化はなかった一方で、エネルギー消費の亢進が寄与していることが判明した。またエネルギー消費が亢進した一因として交感神経系の活性化が寄与することが判明した。以上の結果から分泌性因子Neudesinは肥満の発症に関わる因子であり、将来的に抗肥満薬創出の標的となり得る可能性があることが判明した。

研究成果の概要(英文)：We tried to elucidate the physiological roles of Neudesin, a secretory protein, using Neudesin KO mice. We showed that Neudesin KO mice were resistant to high-fat diet induced obesity. Food intake and absorption of fat were comparable between WT and Neudesin KO mice. However, Neudesin KO mice showed increased energy expenditure caused by enhanced sympathetic nervous activity. These results suggest that Neudesin play roles in the development of obesity, and neudesin might be a novel target for anti-obesity drug.

研究分野：分子生物学

キーワード：neudesin 肥満 エネルギー消費 交感神経系

1. 研究開始当初の背景

肥満は糖尿病や脂質異常症などのメタボリックシンドロームの基盤となる病態であり、その増加が全世界的に問題となっている。従って、肥満を抑制するために抗肥満薬の開発が求められており、新規抗肥満薬の開発を目指す上でエネルギー代謝に関わる因子を発見して、その機能や作用機序を解明することが重要である。白色脂肪組織(WAT)由来の分泌性因子レプチンが視床下部に作用して摂食抑制やエネルギー消費の亢進に寄与することが判明したのを契機として、多くの分泌性因子がエネルギー代謝に関わることが明らかになり、分泌性因子は肥満の発症を制御し得る因子として注目を集めている。

研究代表者らのグループでは cDNA 配列を収めたデータベースからシグナル配列を指標にして新規分泌性因子候補を発見してきた。これまでに約 30 種類の因子を発見しており Neudesin (Neuron-derived secretory protein)はその一つである。研究代表者らは Neudesin 遺伝子欠損マウス(以下 KO マウス)を用いて Neudesin の生理的意義の解明に取り組んでいる。

2. 研究の目的

Neudesin は脳神経系で高発現し、さらに培養神経細胞に対する生存維持活性を示すなど神経系に対して作用することが報告されている。一方で Neudesin は脂肪組織や心臓など様々な末梢組織でも発現が認められ、非神経系に対して作用することを示唆する報告もあるので、その生理的意義の解明が課題であった。研究代表者らは Neudesin の生理的意義の解明を目的として、Neudesin KO マウスの解析を行ってきた。その結果 Neudesin KO マウスが高脂肪食負荷により誘導される肥満に耐性を示すことを明らかにした。従って Neudesin の生理的意義としてエネルギー代謝調節に関わることが考えられる。本研究の目的は、Neudesin のエネルギー代謝における役割を明らかにして、将来的に Neudesin を抗肥満薬創出の標的とする上で基盤となる知見を得ることである。

3. 研究の方法

(1)マウスを用いた実験全般に関して

一部の野生型マウスおよび Neudesin KO マウスは生後 4 週齢から 12 週間高脂肪食(脂質エネルギー比 60%)を与えた。16 週齢に達した段階で適切な方法で安楽死させて、血漿や組織を回収して解析に用いた。

以下に特筆すべき事項に関して記述する。

(2)エネルギー消費に関する解析

呼吸ガス測定は代謝ケージ(ARCO-2000)を用いて生後 12 週齢の段階で行った。測定にあたっては京都大学農学研究科の伏木亨

教授、井上和生准教授、松村成暢助教にご協力頂いた。

(3)培養細胞を用いた実験

ラット副腎髄質由来の培養細胞 PC12 細胞を用いた。PC12 細胞は常法通り NGF 添加によって分化させて交感神経の節後ニューロンのモデルとして用いた。

組換え Neudesin たんぱくは我々の既報(Kimura. et al. *J Neurosci Res* (2005)) に従って、昆虫細胞を用いた大量発現で獲得した。

4. 研究成果

研究代表者は本研究期間内に以下の知見を得た。

(1)エネルギー消費と Neudesin

Neudesin KO マウスは高脂肪食負荷により誘導される肥満に耐性を示した。研究代表者は Neudesin KO マウスでは体温の上昇が認められることを明らかにした。さらに代謝ケージを用いた呼吸ガス測定の結果、Neudesin KO マウスでは酸素消費量の増加や、脂肪酸酸化の亢進が認められた。これらの結果より Neudesin KO マウスではエネルギー消費が亢進していることが明らかになった。

(2)摂食や脂質の吸収と Neudesin

高脂肪食飼育した Neudesin KO マウスの摂食量を検討したが、野生型マウスの摂食量と比較して違いは認められなかった。また糞量および糞中脂質量から脂質吸収に関して検討したが Neudesin KO マウスでも 99% 以上の脂質が吸収されており、特筆すべき異常はないことが明らかになった。

(3)交感神経活性と Neudesin

交感神経系の活性化はエネルギー消費の亢進をもたらす。そこで、Neudesin KO マウスにおける交感神経活性の変化について検討した Neudesin KO マウスでは心拍数の有意な上昇が認められた。また血漿中にノルアドレナリン濃度や、脂肪組織などノルアドレナリン含量が増加した組織が認められた。従って、Neudesin KO マウスでは交感神経活性の亢進が認められることが判明した。さらに Neudesin KO マウスの脂肪組織について検討した結果、WAT では脂肪分解の亢進が認められた。一方で Neudesin KO マウスの褐色脂肪組織(BAT)では Ucp1 など熱産生に関わる因子や、Pgc-1 α を始めとする脂肪酸酸化に関わる因子の発現上昇が認められ、熱産生や脂肪酸酸化が亢進していることが判明した。これらの変化はいずれも交感神経系の活性化によって引き起こされエネルギー消費の亢進に繋がる変化である。以上の結果から、Neudesin KO マウスで認められた抗肥満の表現型には交感神経系の活性

化が脂肪組織において引き起こす変化が関与することが示唆された。

(4) ノルアドレナリン産生と Neudesin

上記の成果より *Neudesin* KO マウスの抗肥満の表現型に交感神経系の活性化が寄与している可能性が高いことが判明した。そこで培養細胞を用いて交感神経系に対する *Neudesin* の作用をより直接的に評価した。その結果、交感神経の節後ニューロンのモデルとなるラット副腎髄質由来の細胞株 PC12 細胞に組換え *Neudesin* たんぱくを添加することで、ノルアドレナリン産生の律速酵素であるチロシンヒドロキシラーゼ(Th)の発現が抑制される可能性があることが判明した。従って、*Neudesin* は交感神経の節後ニューロンで Th 発現を抑制することで、ノルアドレナリン産生を抑制する可能性があることが判明した。一方で交感神経活性を制御するニューロペプチド類の視床下部における発現にジェノタイプ間の差は認められなかった。

(5) 総括

研究代表者は *Neudesin* KO マウスの抗肥満の表現型がエネルギー消費の亢進によって引き起こされること、そしてエネルギー消費亢進の背景には交感神経系の活性化があることを明らかにした。また交感神経系の活性化が WAT および BAT でエネルギー消費の亢進、ひいては抗肥満の表現型に繋がりうる変化をもたらすことも明らかにした。さらに *Neudesin* による交感神経活性制御のメカニズムとして、交感神経節後ニューロンに作用してノルアドレナリン産生を抑制する可能性があることも判明した。

以上の結果から、*Neudesin* は交感神経活性の制御を介して、個体のエネルギー消費さらに肥満の発症に関わる因子であることが判明した。これまでの研究成果が、将来的に *Neudesin* を抗肥満薬創出の標的として用いる上で基盤となることが期待される。

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7件)

1. Ohta H, Kimura I, Konishi M, Itoh N
Neudesin as a unique secreted protein with multi-functional roles in neural functions, energy metabolism, and tumorigenesis
Frontiers in Molecular Biosciences 2, 24 (2015) (査読有)
doi: 10.3389/fmolb.2015.00024

2. Ohta H, Konishi M, Kobayashi Y, Kashio A, Mochiyama T, Matsumura S, Inoue K, Fushiki T, Nakao K, Kimura I, Itoh N
Deletion of the neurotrophic factor

neudesin Prevents Diet-induced Obesity by Increased Sympathetic Activity
Scientific Reports 5, 10049 (2015) (査読有)
doi: 10.1038/srep10049.

3. Masuda Y, Ohta H, Morita Y, Nakayama Y, Miyake A, Itoh N, Konishi M
Expression of *Fgf23* in activated dendritic cells and macrophages in response to immunological stimuli in mice
Biological and Pharmaceutical Bulletin 38, 108-119 (2015) (査読有)
doi: 10.1248/bpb.b14-00276.

4. Ohta H, Itoh N
Roles of FGFs as Adipokines in adipose Tissue Development, Remodeling, and Metabolism
Frontiers in Endocrinology 5, 18 (2014) (査読有) doi: 10.3389/fendo.2014.00018.

5. Murata Y, Nishio K, Mochiyama T, Konishi M, Shimada M, Ohta H, Itoh N
Fgf21 impairs adipocyte insulin sensitivity in mice fed a low-carbohydrate, high-fat ketogenic diet
PLoS One 8, e69330 (2013) (査読有)
doi: 10.1371/journal.pone.0069330.

6. Matsumoto E, Sasaki S, Kinoshita H, Kito T, Ohta H, Konishi M, Kuwahara K, Nakao K, Itoh N
Angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and fibrosis are promoted in mice lacking *Fgf16*
Genes to Cells 18, 544-553 (2013) (査読有)
doi: 10.1111/gtc.12055.

7. Masuda Y, Inoue H, Ohta H, Miyake A, Konishi M, Nanba H
Oral administration of soluble β -glucans extracted from *Grifola frondosa* induces systemic antitumor immune response and decreases immunosuppression in tumor-bearing mice
Internal Journal of Cancer 133, 108-119 (2013) (査読有) doi: 10.1002/ijc.27999.

〔学会発表〕(計 5 件)

1. 第 70 回日本体力医学会大会 (2015 年
和歌山) 招待発表
シンポジウム 19 「マイオカイン・アディポ
カイン –非免疫臓器が分泌する
サイトカインの体力科学的意義」

「肥満に関わる分泌性因子 neudesin の同定
と解析」

太田 紘也

2. 第 38 回 日本分子生物学会年会 (2015 年
神戸)

分泌性因子 neudesin の遺伝子欠損マウスは
交感神経活性の亢進に

より食餌誘導性肥満に耐性を示す

太田紘也、小西守周、橋本大嗣、櫻尾篤樹、

持山喬之、松村成暢、井上和生、

伏木亨、中山喜明、中尾一和、木村 郁夫、

伊藤 信行

3. 第 20 回 アディポサイエンス・シンポジウ
ム (2015 年 大阪)

神経栄養因子 neudesin の遺伝子欠損マウス
は高脂肪食誘導性肥満に耐性を示した

太田紘也、小西守周、松村成暢、井上和生、

伏木亨、中尾一和、木村郁夫、伊藤信行

4. 第 19 回アディポサイエンス・シンポジウ
ム (2014 年 大阪)

分泌性因子 Neudesin の遺伝子欠損マウスは
食餌誘導性肥満に耐性を示す

太田紘也、櫻尾篤樹、小西守周、木村郁夫、

持山喬之、松村成暢、井上和生、伏木亨、

伊藤信行

5. 第 18 回アディポサイエンス・シンポジウ
ム (2013 年 大阪)

分泌性因子 Neudesin の遺伝子欠損マウスは
食餌誘導性肥満に耐性を示す

太田紘也、小林祐介、小西守周、櫻尾篤樹、

松村成暢、井上和生、伏木亨、伊藤信行

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 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 件)

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

太田 紘也 (OHTA HIROYA)

神戸薬科大学・薬学部・研究員

研究者番号: 40638988

(2)研究分担者

なし

研究者番号:

(3)連携研究者

なし

研究者番号: