

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 20 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860736

研究課題名(和文) 肝臓でのアミノ酸シグナルによる代謝臓器間ネットワークの解明

研究課題名(英文) Role of metabolic inter-organ network mediated by hepatic amino acid signaling

研究代表者

宇野 健司 (Uno, Kenji)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：50596632

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)：メタボリックシンドロームの病態は、肥満を共通基盤として糖・脂質の代謝バランスの調節異常が寄与している。アミノ酸は、糖・脂質と共に三大栄養素であるが、肥満の形成過程で糖・脂質代謝といかなる連携や制御異常を来すのか、また代謝臓器間ネットワークに及ぼす影響に関して解明されていない。本研究では、遺伝子工学的手法に基づき、組換えアデノウイルスを用いて肝臓でのアミノ酸代謝とその下流のシグナル経路を活性化させたモデルマウスを作製する。現時点では、このモデルマウスの解析の中で、肝臓のアミノ酸代謝及びその下流のシグナル経路を活性化すると、全身の脂質代謝に変化を認める結果が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Metabolic processes in different organs are regulated in a coordinated manner via both neuronal signals and humoral factors. We have previously demonstrated that neuronal networks, originating in the liver, play important roles in maintaining glucose and energy homeostasis, by enhancing pancreatic beta cell mass and energy consumption, respectively. Nutrient overloads due to food energy excess affect these metabolic regulations, resulting in progression of obesity and metabolic disorders. In this study, we aim to discover a new mechanism of hepatic amino acid signaling on the development of metabolic syndrome from the point of view of inter-organ network. At this stage, we have identified that hepatic amino acid signaling is involved in the regulation of systemic lipid metabolism.

研究分野：医歯薬学

キーワード：アミノ酸代謝 メタボリックシンドローム 肥満 mTOR

## 1. 研究開始当初の背景

個体は、各臓器の代謝が連携してネットワークを形成することで調和を保持していることが再認識されて久しい。研究代表者は、肝臓と他の臓器・組織間のネットワークが個体の代謝に及ぼす未知の役割・機能を解明することを目指し研究を継続している。

まず、脂肪分化蓄積に重要な核内転写因子 PPAR $\gamma$ 2 を肝臓選択的に過剰発現させ、肝臓での脂肪代謝を変化させたモデルマウスを作製し、全身の代謝に及ぼす効果を検討した。この解析から、肝臓に端を発する神経系を介した新規の臓器間代謝ネットワークの存在を世界に先駆けて証明した(Uno et al. Science 312, 1656-59, 2006)。この機構は、肝 PPAR $\gamma$ 2 の調節を介してエネルギー蓄積を感知し、求心性 - 遠心性の自律神経ネットワークを通して全身でのエネルギー消費を増加させる。これは過栄養による肥満進展に対して生体内防御機構として働き、個体のエネルギー代謝の恒常性を維持するという生命機能を司ると考えられた。続いて、肥満の病態においては交感神経系の持続的な活性化がもたらされ、この臓器間ネットワークが逆に高血圧の形成・増悪という病態形成に関与することも見出した(Uno et al. European Heart Journal 33, 1279-89, 2012)。こうした一連の研究成果は、肝臓からの神経シグナルの生理的機能とともにメタボリックシンドローム病態形成に及ぼす影響に関しても言及している。

さらに、研究代表者は、肝 Erk 経路に由来した神経系による臓器間ネットワークが、膵 $\beta$ 細胞の増殖を調節することでインスリン分泌を促し、糖代謝に関与することを示す研究にも参画した(Science 322, 1250-4, 2008)。このように、肝臓は多様な求心性神経シグナルの根源として、全身の代謝調節を担う上で重要な役割を果たしていると推察される。

また、この臓器間ネットワークの概念は世界的にも注目されている。他研究施設からは、

脳の視床下部における糖・脂質の感知し、あるいは腸管内脂質からのシグナルを脳で感知し、迷走神経遠心路を介して肝臓での糖新生や脂質代謝を調節する機構が報告されている。こうした報告は、脳を端緒とした遠心性神経シグナルによる調節の重要性を示している一方で、研究代表者らは、臓器(特に肝臓)から脳への求心性シグナルも含めた神経系ネットワークの重要性に言及している。

## 2. 研究の目的

今日の飽食の時代下、メタボリックシンドロームの病態は、肥満を共通基盤として糖や脂質代謝の制御異常が大きく寄与している。アミノ酸は糖・脂質と共に三大栄養素の一つであるが、肥満の病態形成過程で糖・脂質代謝といかなる連携や制御異常をきたすのか、現時点では詳細は解明されていない。

研究代表者は、肝臓からの代謝情報が、神経系を介して全身臓器の代謝に影響を与える臓器間連関を世界に先駆けて証明した。さらに、この臓器間ネットワークが肥満に伴う高血圧の病態増悪に寄与するという新たな病態形成における役割を解明した。

本研究では、こうした研究成果を基盤としつつ、肝臓におけるアミノ酸の代謝に焦点を当て、肝でのアミノ酸代謝の持つ新たな生理的機能やメタボリックシンドロームの病態における役割について、病態モデルマウスを用いて遺伝子工学的なアプローチから解明することを目的とする。

## 3. 研究の方法

(1) アミノ酸トランスポーター及び mTOR 経路活性化因子を導入した組換えアデノウイルスを用いて、マウス肝臓へ選択的に過剰発現させたモデルマウスを作製する。

(2) (1)のモデルマウスでの糖・脂質・エネルギー代謝状態に与える影響の検討；  
エネルギー代謝、血糖値や糖負荷試験による

糖代謝、インスリン負荷試験によるインスリン感受性、血中脂質と脂質プロファイルによる脂質代謝、などについて検討を行う。

(3) (1)のモデルマウスでの肝における脂肪合成や脂肪分泌に与える影響；

肝での脂肪合成及び、脂肪分泌系遺伝子群の発現変化を real-time RT-PCR 法にて検討や、脂肪分解抑制剤を投与して肝臓からの脂肪分泌の検討などから、肝臓における脂肪代謝の変化を解析する。

(4) (1)のモデルマウスでの肝臓から他臓器・組織に与える影響；

筋(骨格筋や心筋)・褐色脂肪・白色脂肪組織での糖代謝、エネルギー代謝、脂質代謝関連遺伝子の発現変化を real-time RT-PCR 法にて検討する。

(5) 肝から他組織への神経系を介した遠隔効果(ネットワーク)の関与の解明；

他組織や全身代謝に認められた影響について、肝からの迷走神経や内臓神経の脳へ向かう求心系経路の関与に注目する。前もって求心系神経線維の選択的な薬理的遮断剤(カプサイシン)をマウスの神経周囲に処置し、求心性神経の遮断を試み、(1)のアデノウイルスを遺伝子導入した際に、血清脂質や肝臓、脂肪組織の遺伝子発現などの変化にいかなる影響を及ぼすのか、また迷走神経切断術施行モデルとの相違点に関しても検討する。

#### 4 . 研究成果

(1) 肝臓へのアミノ酸トランスポーター過剰発現モデルでは、肝臓内のアミノ酸含量は増加し、下流のmTOR/S6K 経路のシグナル分子のリン酸化の活性化が認められた。また、後者の変化は、肝臓へのmTOR経路活性化因子過剰発現モデルにおいても確認された。以上から、両者のモデルマウスでは、実際に肝臓でのアミノ酸代謝やその下流のシグナル経路の変化がもたらされることが示唆された。

(2) モデルマウスでの糖・脂質・エネルギー

代謝状態に与える影響の検討；

各種代謝パラメーターの解析の中で、特に脂質代謝(高中性脂肪血症、HPLC解析からカイロミクロン高値)に顕著な変化を認めた。

(3) モデルマウスでの肝における脂肪合成や脂肪分泌に与える影響；

肝臓での脂肪合成、分泌系の遺伝子変化はreal time RT-PCR 法で検討した結果、普通食モデルでは特に変化を認めなかった。また、脂肪分解抑制剤を投与し肝臓からの脂肪分泌を検討した結果、普通食モデルでは対象群と差を認めなかった。

(4) モデルマウスでの肝臓から他臓器・組織に与える影響；

肝臓以外の代謝関連組織の筋(骨格筋や心筋)・脂肪組織(白色、褐色)における脂質代謝関連遺伝子の発現変化をreal-time RT-PCR 法にて検討した。その結果、白色脂肪組織において、血清中性脂肪の加水分解に関与するとされるリポ蛋白リパーゼ(LPL)の遺伝子発現が低下していた。

(5) 肝から他組織への神経系を介した遠隔効果(ネットワーク)の関与の解明；

白色脂肪組織の LPL の発現調節に、肝臓からの神経系によるネットワークの関与を推定し、迷走神経肝臓枝の切断術と求心系神経の遮断剤の処置を行った。対象手術と処置群では LPL の発現減少を認めたが、切断術や遮断剤投与群ではその減少は抑制された。

#### 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 6 件)

1. Mamiko Tanaka, Junta Imai, Michihiro Satoh, Takanao Hashimoto, Tomohito Izumi, Shojiro Sawada, Kenji Uno, Yutaka Hasegawa, Keizo Kaneko, Tetsuya Yamada, Yasushi Ishigaki, Yutaka Imai, Hideki Katagiri. Impacts of the great east japan earthquake on diabetic patients.

- Journal of Diabetes Investigation, 2015. 査読有
2. Mamiko Tanaka, Junta Imai, Michihiro Satoh, Takanao Hashimoto, Tomohito Izumi, Shojiro Sawada, Kenji Uno, Yutaka Hasegawa, Keizo Kaneko, Tetsuya Yamada, Yasushi Ishigaki, Yutaka Imai, Hideki Katagiri. Glycemic control in diabetic patients with impaired endogenous insulin secretory capacity is vulnerable after a natural disaster: study of Great East Japan Earthquake. Diabetes Care, 37: e212-213, 2014. 査読有
  3. Shinjiro Kodama, Tetsuya Yamada, Junta Imai, Shojiro Sawada, Kei Takahashi, Sohei Tsukita, Keizo Kaneko, Kenji Uno, Yasushi Ishigaki, Yoshitomo Oka, Hideki Katagiri. Simultaneous Copy Number Losses within Multiple Subtelomeric Regions in Early-Onset Type2 Diabetes Mellitus. Plos one, 9: e88602, 2014. 査読有
  4. 宇野健司, 肝からの臓器間ネットワークの新たな役割, Diabetes Update, 3(3): 50-53, 2014, 査読有
  5. Masahiro Takagi, Yasushi Ishigaki, Kenji Uno, Shojiro Sawada, Junta Imai, Keizo Kaneko, Yutaka Hasegawa, Tetsuya Yamada, Ai Tokita, Kazumi Iseki, Shigenori Kanno, Yoshiyuki Nishio, Hideki Katagiri, Etsuo Mori. Cognitive dysfunction associated with anti-glutamic acid decarboxylase autoimmunity: a case-control study. BMC Neurology, 13: 76, 2013. 査読有
  6. 宇野健司・片桐秀樹, 肥満と高血圧の発症の共通基盤, Annual Review 循環器, 177-185, 2013, 査読有

[学会発表](計 9 件)

1. 高橋 圭, 山田 哲也, 突田 壮平, 白井 勇太, 宗像 佑一郎, 児玉 慎二郎, 浅井 洋一郎, 梶澤 貴志, 千葉 弓子, 高橋 広延, 近藤 敬一, 金子 慶三, 宇野 健司, 澤田 正二郎, 今井 淳太, 片桐 秀樹, 慢性ストレスは肥満を

- 伴わずに肝臓の時計・代謝関連遺伝子の日内発現様式を変調させる, 第 35 回日本肥満学会, 2014 年 10 月 24-25 日、シーガイアコンベンションセンター (宮崎市)
2. 澤田 正二郎, 石垣 泰, 近藤 敬一, 鴫田 藍, 佐竹 千尋, 高橋 圭, 突田 壮平, 金子 慶三, 宇野 健司, 今井 淳太, 山田 哲也, 田中 直樹, 内藤 剛, 片桐 秀樹, 肥満外科治療により糖尿病が寛解した症例の血糖プロフィール(CGM による解析), 第 32 回日本肥満症治療学会学術集会, 2014 年 7 月 4-5 日、滋賀県立県民交流センター ピアザ淡海 (滋賀県大津市)
  3. 宇野健司、片桐秀樹, 肝からの臓器間ネットワークの新たな役割, 第 57 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2014 年 5 月 22-24 日、大阪国際会議場 (大阪市)
  4. 児玉 慎二郎, 山田 哲也, 高橋 圭, 突田 壮平, 金子 慶三, 宇野 健司, 澤田 正二郎, 今井 淳太, 石垣 泰, 岡 芳知, 片桐 秀樹, 複数のサブテロメア領域に同時に認められる若年発症 2 型糖尿病患者の高頻度コピー数欠失, 第 57 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2014 年 5 月 22-24 日、大阪国際会議場 (大阪市)
  5. 鈴木 亨, 高 俊弘, 石垣 泰, 澤田 正二郎, 近藤 敬一, 本間 緑, 高橋 圭, 突田 壮平, 金子 慶三, 宇野 健司, 今井 淳太, 山田 哲也, 片桐 秀樹, 肝糖新生における小胞体ストレス関連因子 CHOP の役割, 第 57 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2014 年 5 月 22-24 日、大阪国際会議場 (大阪市)
  6. 澤田 正二郎, 石垣 泰, 近藤 敬一, 鴫田 藍, 佐竹 千尋, 高橋 圭, 突田 壮平, 金子 慶三, 宇野 健司, 今井 淳太, 山田 哲也, 田中 直樹, 内藤 剛, 片桐 秀樹, 糖尿病合併高度肥満に対する肥満外科治療 1 年後の CGM で捉えた血糖プロフィール, 第 57 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2014 年 5 月 22-24 日、大阪国際会議場 (大阪市)

7, 高橋 圭, 山田 哲也, 突田 壮平, 白井 勇太, 宗像 佑一郎, 児玉 慎二郎, 浅井 洋一郎, 梶澤 貴志, 千葉 弓子, 金子 慶三, 宇野 健司, 澤田 正二郎, 今井 淳太, 片桐 秀樹, 慢性ストレスは視床下部視交叉上核を介さずに肝臓の時計・代謝関連遺伝子の日内発現様式を変調させる, 第 87 回日本内分泌学会学術総会, 2014 年 4 月 24-26 日、福岡国際会議場 (福岡市)

8, 突田 壮平, 山田 哲也, 宇野 健司, 高橋 圭, 金子 慶三, 白井 勇太, 宗像 佑一郎, 児玉 慎二郎, 浅井 洋一郎, 梶澤 貴志, 千葉 弓子, 澤田 正二郎, 今井 淳太, 石垣 泰, 片桐 秀樹, 肝 GK による BAT 熱産生低下が個体のエネルギー代謝に及ぼす効果は飼育温度に影響される, 第 34 回日本肥満学会, 2013 年 10 月 11-12 日、東京国際フォーラム (東京都)

9, 東海林 渉, 石垣 泰, 黒澤 聡子, 山田 哲也, 今井 淳太, 澤田 正二郎, 鴫田 藍, 宇野 健司, 長谷川 豊, 金子 慶三, 片桐 秀樹, 安保 英勇, 糖尿病の食事療法への夫婦の取り組みタイプに関する検討 血糖コントロールおよびメンタルヘルスの比較, 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2013 年 5 月 16-18 日、ホテル日航熊本 (熊本市)

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

宇野 健司 (Uno, Kenji)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号 : 50596632