

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：32645

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670479

研究課題名(和文)肥満を基盤としたリウマチ発症のメカニズムの解明

研究課題名(英文)Analysis of mechanisms of rheumatoid arthritis associated with obesity

研究代表者

藤田 英俊 (Fujita, Hidetoshi)

東京医科大学・医学部・講師

研究者番号：90571802

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：リウマチ発症のリスク増大に肥満が関連するが、関節リウマチと肥満を結ぶ分子メカニズムは明らかとされていない。応募者らは、シノビオリンがリウマチ発症因子であること、シノビオリン阻害剤がリウマチ発症を抑制すること、さらに、近年シノビオリン欠損マウスの解析から、シノビオリンが肥満に關与することを明らかにした。本研究では、マウスとヒトにおいて、シノビオリンの発現が肥満と相關すること、シノビオリン阻害剤が、肥満抑制することを明らかにした。さらに、天然物において同様の活性を見出した。以上の結果は、シノビオリン阻害剤がメタボリックシンドロームの基盤をなす肥満とリウマチの治療に有効である可能性を示している。

研究成果の概要(英文)：Obesity was related to the increase of risk of the rheumatic onset. However, the molecular mechanism is not clear. We demonstrated that synoviolin (SYVN1) was important in rheumatoid arthritis (RA) and obesity. We showed that SYVN1 was causing factor of RA and SYVN1 inhibitor repressed RA in collagen-induced arthritis mice model. We recently demonstrated that Syvn1 knockout mice was associated with weight loss and reduced white adipose tissue abundance. In this study, we investigated the expression of SYVN1 in the obesity. SYVN1 was highly expressed in the obese mice (ob/ob and db/db mice) and obese human. We next examined the effects of SYVN1 inhibitor. SYVN1 inhibitors prevented age-related weight gain in wild-type mice and obese mice. In addition, reduction of white adipose tissue was observed. We found inhibitory effects of SYVN1 in natural products. Our findings indicate the potential usefulness of SYVN1 inhibitor in preventing and treating obesity and RA.

研究分野：分子生物学

キーワード：リウマチ 肥満 シノビオリン 阻害剤 脂肪

1. 研究開始当初の背景

関節リウマチは、全身性の種々の免疫異常、滑膜細胞の過増殖、骨・軟骨破壊、線維化などの多段階の病的プロセスが相互作用しながら発症する。自己免疫疾患という観点ではこれまで広く研究がなされてきたが、滑膜細胞の増殖の機序はほとんど解明されていなかった。

応募者らは、滑膜細胞に着目し、滑膜細胞の増殖の分子メカニズムを一貫して研究してきた。その結果、小胞体タンパク質であるシノビオリンを同定した。シノビオリンが、小胞体ストレスに誘導され、不良タンパク質の除去に機能する E3 ユビキチンリガーゼであること、シノビオリンが関節リウマチ滑膜細胞に過剰発現し、関節リウマチの発症因子となること、さらに、シノビオリンヘテロマウスがコラーゲン誘導性のリウマチに抵抗性を示すことを明らかにした。さらに、応募者らは、シノビオリン遺伝子が小胞体ストレス応答因やサイトカインに応答する ETS ファミリー転写因子によって、発現が制御されることを明らかとした。また、シノビオリンの基質として、アポトーシス促進因子である p53 を同定し、シノビオリンが p53 を分解することでアポトーシスに抵抗性を示すことを明らかとした。

2. 研究の目的

2013年4月リウマチ発症のリスク増大に肥満が関連すること、生物製剤による治療抵抗性に関して肥満がリスクファクターであることが報告されたが、これらの分子メカニズムは明らかとされていない。応募者らは、これまで小胞体ストレス応答に機能するシノビオリンに着目し、シノビオリンがリウマチ患者の滑膜細胞で高発現するリウマチ発症因子であること、コラーゲンなどの分泌タンパク質を制御することを報告した。さらに、成獣マウスよりシノビオリンを時期特異的にノックアウトするマウスでは、劇的な体重

減少と白色脂肪の顕著な減少が認められた。以上の結果から、応募者らはシノビオリンがリウマチ発症と肥満とを結ぶ因子の一つであり、肥満における治療抵抗性の原因の一つであるという仮説を持つに至った。

3. 研究の方法

1) 肥満におけるシノビオリンの発現解析

シノビオリン遺伝子を成体から欠失させると(時期特異的ノックアウトマウス)、体重の減少が起きる。一方で、肥満におけるシノビオリンの発現は不明であった。

肥満モデルマウスである *ob/ob* マウス、*db/db* マウスにおけるシノビオリンの発現を検証した。脂肪組織をサンプリング後、RNA, protein レベルでのシノビオリンの発現を検討した。

BMI が 25 を超えるヒトと BMI が 25 以下のヒトより、血液を採取し、血液細胞を分離回収した。回収した血液細胞より RNA を精製し、逆転写後、リアルタイム PCR にて、シノビオリンの発現量を比較した。

2) 脂肪特異的シノビオリン欠損マウスの表現型の解析

シノビオリン遺伝子を脂肪組織特異的に欠損させるために、脂肪組織特異的に Cre を発現する Adipoq-Cre マウスとシノビオリンの flox マウスとを掛け合わせて、脂肪組織特異的シノビオリン欠損マウスを作製した。体重の変化を測定し、脂肪組織をサンプリングし、RNA, protein レベルの解析を行うとともに、ミトコンドリア機能の解析を行った。

3) シノビオリン阻害剤を用いた肥満への効

果の検証

シノビオリン遺伝子を成体から欠失させると(時期特異的ノックアウトマウス)体重の減少が起きる。この結果より、シノビオリンの機能を阻害しても同様の結果が起こる可能性が考えられたので、治療やサプリメントの開発を視野に入れて、シノビオリン阻害剤にて同様の結果が得られるかどうかについて検証した。

4. 研究成果

- 1) 肥満におけるシノビオリンの発現解析
肥満モデルマウスである *ob/ob* マウス、*db/db* マウスにおけるシノビオリンの発現を検証した結果、シノビオリンは肥満モデルマウスにおいてその発現が高かった。

BMI が 25 を超えるヒトと BMI が 25 以下のヒトについて、血液でのシノビオリンの発現量を比較した結果、BMI が 25 を超える肥満のヒトが有意にシノビオリンの発現量が高かった。

上記の結果より、マウスとヒトの両方において、シノビオリンの発現量は肥満で高かった。したがって、シノビオリンは肥満のマーカーになる可能性が考えられた。

- 2) 脂肪特異的シノビオリン欠損マウスの表現型の解析

脂肪特異的シノビオリン欠損マウスの体重を測定した結果、野生型マウスと比較してシノビオリン欠損マウスでは体重の増加が抑制されていた。

脂肪組織をサンプリングした結果、野生型マウスと比較して、シノビオリン欠損マウスでは脂肪組織量が減少していた。

脂肪組織をサンプリングして、ミトコンドリアの活性を測定したところ、シノビオリン欠損マウスで有意にミトコンドリアが

活性していることが認められた。

- 3) シノビオリン阻害剤を用いた肥満への効果の検証

シノビオリン阻害剤を野生型マウスに投与した結果、体重の増加が抑制された。また、脂肪の量もコントロールと比較して減少した。さらに、肥満のモデルマウスである *db/db* マウスについても、シノビオリンの阻害剤を投与した結果、肥満マウスにおいても体重の増加が抑制された。脂肪組織をサンプリングした結果、シノビオリン阻害剤の投与によって、脂肪組織の減少が認められた。さらに、シノビオリン阻害剤を検証した結果、天然物において、シノビオリン阻害活性を有する物質を見出し、それが、体重の増加の抑制に効果的であることが認められた。

以上の結果は、シノビオリン阻害剤の開発がメタボリックシンドロームの基盤をなす肥満の治療に有効である可能性を示している。さらに、阻害活性を有するサプリメントの可能性も示している。

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 2 件)

- Fujita H, Aratani S, Fujii R, Yamano Y, Yagishita N, Araya N, Izumi T, Azakami K, Hasegawa D, Nishioka K and Nakajima T
Mitochondrial Ubiquitin Ligase Activator of NF-κB (MULAN) regulates NF-κB signaling in ER stress-stimulated cells.
Int J Mol Med. 37(6)1611-1618. 2016
10.3892/ijmm.2016.2566
査読有
- Fujita H, Yagishita N, Aratani S, Saito-Fujita T, Morota S, Yamano Y, Magnus J, Hansson, Inazu M, Kokuba H, Katsuko Sudo K, Sato E, Kawahara K, Nakajima F, Hasegawa D, Higuchi H, Sato T, Araya N, Usui C, Nishioka K, Nakatani Y, Maruyama I,

Usui M, Hara N, Uchino H, Eskil Elmer, Nishioka K, Nakajima T. The E3 ligase synoviolin controls body weight and mitochondrial biogenesis through negative regulation of PGC-1 β . EMBO J. 34(8):1042-1055. 2015
10.15252/embj.201489897
査読有

〔学会発表〕(計 7件)

藤田英俊、荒谷聡子、八木下尚子、須藤カツ子、中島若巳、内野博之、西岡久寿樹、中島利博
慢性炎症に関わるシノビオリンの新規エネルギー代謝調節機構
BMB2015 (第 38 回 日本分子生物学会年会、第 88 回日本生化学会大会 合同大会)
2015/12/1-4
神戸ポートアイランド、兵庫

藤田英俊、荒谷聡子、八木下尚子、西岡久寿樹、中島利博
慢性炎症に関わるシノビオリンの新しい生体機能
日本線維筋痛症学会第 7 回学術集会
2015/10/3-4
ベルサール新宿
グランドコンファレンスセンター、東京

藤田英俊
慢性炎症に機能するシノビオリンの新しい生体機能
第 16 回 運動器科学研究会
2015/9/11-12
南日本新聞社 みなみホール、鹿児島

藤田英俊、荒谷聡子、中島利博、須藤カツ子、中島若巳、稲津正人、西岡久寿樹、原直美、内野博之
慢性炎症と肥満とをつなぐシノビオリンにおけるエネルギー代謝調節機構
第 175 回東京医科大学医学会総会
2015/6/6
東京医大、東京

藤田英俊、荒谷聡子、中島利博、中島若巳、西岡久寿樹、諸田沙織、内野博之、須藤カツ子
リウマチ発症因子シノビオリンによるエネルギー代謝調節機構
第 174 回東京医科大学医学会総会
2014/11/1
東京医大、東京

藤田英俊
リウマチ発症因子シノビオリンによる新規エネルギー代謝調節機構
第 15 運動器科学研究会

2014/9/5-6
ベルサール三田、東京
藤田英俊、荒谷聡子、八木下尚子、西岡久寿樹、中島利博
E3 ユビキチンリガーゼであるシノビオリンによる体重制御機構
第 58 回日本リウマチ学会 総会・学術集会
2014/4/24-26
グランドプリンスホテル高輪、東京

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0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 0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〕
特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者
藤田 英俊 (Fujita, Hidetoshi)
東京医科大学・医学部・講師
研究者番号：90571802

(2) 研究分担者
()

研究者番号：

(3) 連携研究者
()

研究者番号：