

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 14 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26860687

研究課題名(和文) 転写因子KLF5による摂食調節機構の解明

研究課題名(英文) Transcription factor KLF5 in the regulation of appetite control

研究代表者

小島 敏弥 (Kojima, Toshiya)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30625588

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：視床下部弓状核は摂食中枢として機能している。転写因子Kruppel-like factor 5 (KLF5)は視床下部弓状核において、摂食亢進に作用するAgouti-related peptide(AgRP)分泌細胞に一致して存在する。KLF5はAMPK、FoxO1と拮抗することでAgrp活性化を抑制し、KLF5がAMPK、FoxO1、Agrpをつなぐ鍵因子であることが示唆された。Agrp特異的Klf5ノックアウトマウスでは、摂食量増加に依存する体重増加を認めた。KLF5は摂食調節に関与し、多面的に代謝制御に寄与することが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Increasing prevalence of obesity is an urgent public health challenge. The arcuate nucleus in the hypothalamus integrates control appetite. It contains neurons expressing Agouti-related peptide (AgRP) that promote food intake. In immunohistochemistry of hypothalamus, Kruppel-like factor 5 (KLF5) was expressed in AgRP neuron. KLF5 inhibited FoxO1 function which activates Agrp promoter. Agrp neuron-specific Klf5 deletion mice increased food intake and body weight gain. On the other hand, pair-feeding did not induce the significant difference of body weight between wild type mice and Agrp neuron-specific Klf5 deletion mice. These phenotypes indicate that Agrp neuron-specific Klf5 deletion mice had more body weight gain, because of more food intake. KLF5 suppress activation of AgRP neurons by counteracting with FoxO1 in the hypothalamus, thereby inhibiting food intake. KLF5 appears to be important for both central and peripheral control of energy metabolism.

研究分野：医歯薬学

キーワード：転写因子KLF5 摂食調節 AgRP FoxO1 メタボリックシンドローム

1. 研究開始当初の背景

過食と運動不足を背景としてわが国でも、特に男性で肥満は増え続けている。平成21年の国民健康栄養調査によるとBMI 25の肥満者は男性28.6%、女性20.6%である。肥満はメタボリックシンドロームに代表されるように、複数の臓器機能障害を引き起こし、動脈硬化性疾患、心不全を始めとする心血管疾患の重要なリスクとなる。肥満の分子機序を明らかにし、有効な予防・治療法を打ち立てることは喫緊の課題である。その機序として、摂食調節は重要である。例えば、1日に100kcal余分なエネルギーの摂取は1年間で4kgの体重増加をもたらす。摂食は主に視床下部の摂食中枢で制御されていることが知られているが、その分子機序には不明な点が多い。

2. 研究の目的

摂食は、膵臓からのインスリン、脂肪組織からのレプチンなど、末梢代謝の情報を統合する摂食中枢によって制御される。特に視床下部弓状核に主要な摂食中枢が存在し、Agouti-related protein (AgRP)を発現して摂食を促進するAgRPニューロンやPro-opiomelanocortin (POMC)を発現して摂食を抑制するPOMCニューロンが挙げられる。これらのニューロンが受容するシグナルについては近年研究が進んだが、転写制御機構についてはよく分かっていない。我々はこれまで転写因子KLF5が動脈硬化、心肥大、線維化を含む心血管疾患の病態に関与していること、さらには脂肪細胞分化、骨格筋における脂肪の燃焼に関与していることを報告してきた。KLF5ヘテロノックアウトマウスでは体重減少が見られる一方で摂食量増加がみられた。転写因子KLF5が摂食調節においても何らかの役割を果たしているという仮説を立て、本研究では転写因子KLF5による視床下部弓状核AgRPニューロンの機能制御機構を検討し、末梢からの情報に応じた摂食調節の分子機序を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

培養ニューロンを用いたKLF5転写ネットワークの解析、AgRPニューロン特異的KLF5ノックアウトマウスを用いた摂食行動におけるKLF5機能のin vivo解析を進めた。また、AgRPの発現、調節にforkhead box-containing protein of the O subfamily (FoxO)-1が関与していることが知られているが、AgrpプロモーターにおけるKLF5とFoxO1の結合部位は隣接していることに着目し、KLF5とFoxO1の相互作用に着目して、転写ネットワークを解明するとともに、AgRPニューロンがKLF5のSUMO化を介して末梢からのシグナルに応答するというモデルを検証した。

4. 研究成果

(1) 免疫組織化学において、KLF5は視床下部弓状核に局在して発現しており、特に

1. 研究開始当初の背景

AgRPニューロンに発現が見られた。培養ニューロンにおいてKLF5がAgRPの発現を抑制しており、摂食を負に調節すると考えられた。

(2) Agrpプロモーター領域において、KLF5結合部位の存在が示唆された。AgrpプロモーターにおけるKLF5結合領域の部位特異的変異導入によりKLF5によるAgrpプロモーターの抑制がみられなくなった。これはKLF5がAgrpの抑制に必須であることを示唆するものである。

(3) クロマチン免疫沈降によりKLF5がAgrpプロモーター領域に直接的に作用すること、更には低グルコース刺激により結合が外れるという知見を得た。

(4) forkhead box-containing protein of the O subfamily (FoxO)-1はPI3K依存性の代

謝や細胞分化を調節していると共にAgRPを誘導するが、ルシフェラーゼアッセイにおいてKLF5とFoxO1の相互作用を示唆する知見を得た。FoxO1はAgRPに対して促進的に作用し、KLF5はそれに対して抑制的に作用していた。KLF5は高グルコース状態ではFoxO1と結合しているが、低グルコース状態ではFoxO1と解離していた。

(5) AgRPの調節にはFoxO1のリン酸化が関与することが知られている。FoxO1はリン酸化により核外に移行し、非活性化する。培養ニューロンにおけるKlf5のノックダウンによりFoxO1のリン酸化が減少した。KLF5がFoxO1のリン酸化に関与し、AgRPを抑制していることが示唆された。

(6) 翻訳後修飾であるSUMO化により多くの転写が抑制されていることが知られている。KLF5のSUMO化との関連について検討した。非SUMO化KLF5はFoxO1により活性化したAgrpプロモーターを抑制せず、SUMO特異的プロテアーゼであるSEN1によりAgrpプロモーター活性が上昇した。KLF5のSUMO化がAgrpの抑制に必須であると考えられた(図1)。

(7) Agrp特異的Klf5ノックアウトマウスを作成した。Agrp特異的Klf5ノックアウトマウスの視床下部ではAgrp mRNA発現が増加していた。しかし、骨格筋においては有意差を認めなかった。また、Agrp特異的Klf5ノックアウトマウスの表現型として摂食量、体重共に増加していた(図2、図3)が、pair-feedingによりコントロール群と同量の摂食量としたところ、体重に有意差を認めなかった。さらにKlf5ノックアウトにより体重増加を来したマウスは

control に比し、耐糖能異常、インスリン抵抗性を来した。これらは *AgRP* において KLF5 が抑制的に作用し、メタボリックシンドロームに寄与していることを示唆する。

(8) 以上より、KLF5 は、脂肪細胞分化、脂肪酸燃焼に加えて、摂食を調節し代謝制御に多面的に寄与することが明らかとなった。

図 1. KLF5 は FoxO1 を介した *AgRP* 調節に寄与する。

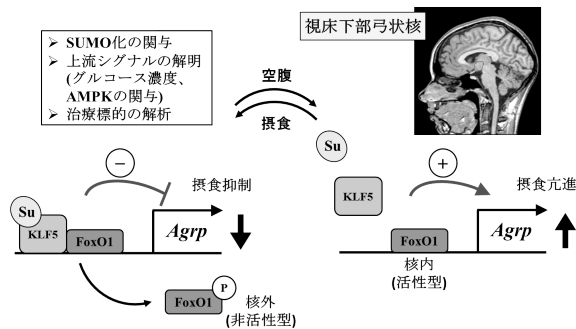


図 2. *AgRP* 特異的 *Klf5* ノックアウトマウスとコントロール群における摂食量の比較

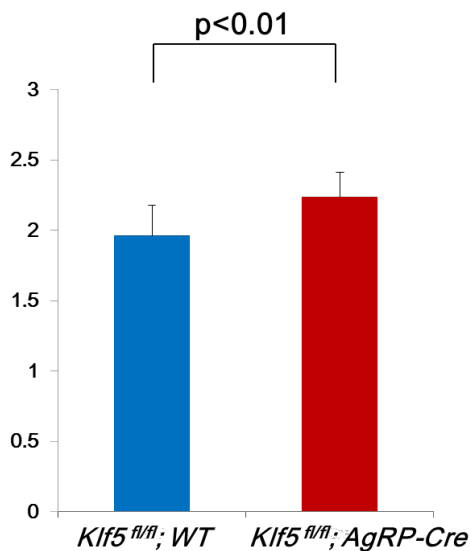
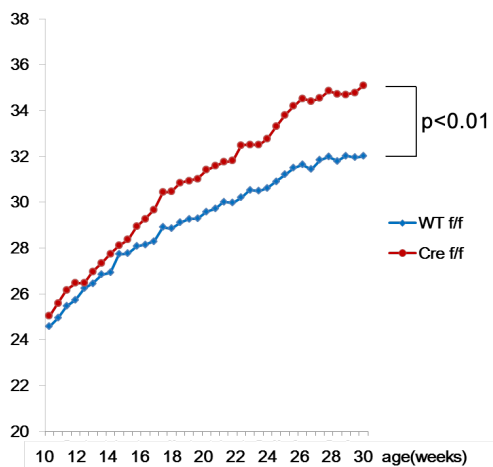


図 3. *AgRP* 特異的 *Klf5* ノックアウトマウスとコントロール群における体重の比較



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)

[学会発表](計 14 件)

Toshiya Kojima

「SUMOylation of Kruppel-like factor 5 controls food intake by suppressing *AgRP* expression on contact with FoxO1 in hypothalamic neurons」

第 77 回 日本循環器学会学術集会, 2012/3/16, パシフィコ横浜 (神奈川・横浜)

Toshiya Kojima

「KLF5 controls food intake by regulating *AgRP* expression in hypothalamic neurons」

FASEB, Science Research Conference, Biology and Pathobiology of Kruppel-like factors (KLFs), 2012/8/5 ~ 8/10, Snowmass, Colorado (US)

小島 敏弥

「転写因子 KLF5 は *AgRP* を抑制し摂食を調節する」

第 33 回 日本肥満学会学術集会, 2012/10/11, ホテルグランヴィア京都 (京都・京都)

小島 敏弥

「転写因子 KLF5 は *AgRP* を抑制し摂食を調節する」

第 16 回 日本心血管内分泌代謝学会, 2012/11/23, 東京国際フォーラム (東京・東京)

Toshiya Kojima

「SUMOylation of Kruppel-like factor 5 controls food intake by suppressing *AgRP* expression on contact with FoxO1 in hypothalamic neurons」

KEYSTONE SYMPOSIA, 「Neuronal Control of Appetite, Metabolism and Weight(C6)」, 2013/3/19, Banff, Alberta (Canada)

Toshiya Kojima

「SUMOylation of Kruppel-like factor 5 controls food intake by suppressing *AgRP* expression on contact with FoxO1 in hypothalamic neurons」

Abcam Conference 「Programming Obesity: Central and Peripheral Contributor」, 2013/4/15, Fitzwilliam College, University of Cambridge, Cambridge (UK)

Toshiya Kojima

「SUMOylation of Kruppel-like factor 5 controls food intake by suppressing *AgRP* expression on contact with FoxO1

in hypothalamic neurons」
ESC Congress 2013, 2013/9/1,
Amsterdam (Netherland)

小島 敏弥

「転写因子 KLF5 は FoxO1 による AgRP
活性を抑制し摂食を調節する」

第 34 回 日本肥満学会学術集会,
2013/10/12, 東京国際フォーラム (東京・
東京)

小島 敏弥

「転写因子 KLF5 は FoxO1 による AgRP
活性を抑制し摂食を調節する」

第 17 回 日本心血管内分泌代謝学会,
2013/11/22, 千里ライフサイエンスセンタ
ー (大阪・豊中)

Toshiya Kojima

「SUMOylation of Kruppel-like factor 5
controls food intake by suppressing
AgRP expression on contact with FoxO1
in hypothalamic neurons」

KEYSTONE SYMPOSIA, Obesity: A
Multisystems Perspective, 2014/1/14,
Vancouver, British Columbia (Canada)

Toshiya Kojima

「SUMOylation of Kruppel-like factor 5
controls food intake by suppressing
AgRP expression on contact with FoxO1
in hypothalamic neurons」

第 78 回 日本循環器学会学術集会,
2014/3/22, 東京国際フォーラム (東京・東
京)

小島 敏弥

「転写因子 KLF5 は FoxO1 による AgRP
活性を抑制し摂食を調節する」

第 51 回 日本臨床分子医学会学術集会,
2014/4/11, 東京国際フォーラム (東京・東
京)

Toshiya Kojima

「SUMOylation of Kruppel-like factor 5
controls food intake by suppressing
AgRP expression on contact with FoxO1
in hypothalamic neurons」

FASEB Science Reseach Conference,
Biology and Pathobiology of Kruppel-like
Factors (KLFs), 2014/8/6, FASEB,
Science Research Conference, Snowmass,
Colorado (US)

小島 敏弥

「転写因子 KLF5 は AMPK、FoxO1、AgRP
をつなぐ摂食調節の鍵因子である」

第 35 回 日本肥満学会学術集会,
2014/10/25, シーガイアコンベンションセ
ンター (宮崎・宮崎)

〔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〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小島 敏弥 (KOJIMA, Toshiya)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号: 30625588

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: