

平成 30 年 5 月 11 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09412

研究課題名(和文) 肥満脂肪組織におけるアミノ酸・プリン代謝とアディポサイトカイン産生異常

研究課題名(英文) Metabolic change in obese adipose tissue and adipocytokine dysregulation

研究代表者

西澤 均 (Nishizawa, Hitoshi)

大阪大学・医学系研究科・講師

研究者番号：20379259

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：肥満脂肪組織での代謝異常の全容は明らかではない。当教室では以前、肥満脂肪組織から尿酸分泌が亢進していることをマウスモデルで報告した(J.Biol.Chem.2013)。本研究ではヒト脂肪組織検体を用い、ヒト脂肪組織においてはXORの発現は限定的で主にヒポキサンチンとしてプリン代謝物を産生・分泌し、低酸素状態で亢進していることを見出した(Obesity, in press)。また、メタボローム解析により、肥満脂肪組織ではTCAサイクルが亢進しそれに伴いグルタミン酸産生が増加し、それがアディポネクチン分泌抑制、脂肪細胞のインスリン抵抗性を惹起することを報告した(J.Biol.Chem.2017)。

研究成果の概要(英文)：Little is known about the secretion of metabolites associated with purine catabolism in human white adipose tissue (hWAT). Human adipose tissue secreted hypoxanthine, a precursor of uric acid in purine catabolism, more than xanthine and uric acid. Hypoxanthine secretion and intracellular metabolites associated with purine biosynthesis were augmented under hypoxia in human adipocytes (Obesity, in press). The static metabolic analyses showed that glutamate and constitutive metabolites of tricarboxylic acid (TCA) cycle were increased in WAT of obese mice. Moreover, in vivo metabolic turnover analyses demonstrated that glucose-derived these metabolites were dynamically and specifically produced in obese WAT. In adipocytes, glutamate treatment reduced adiponectin secretion and insulin-mediated glucose uptake and phosphorylation of Akt. These data suggest that high intra-adipocytes glutamate level potentially relates to adipocyte dysfunction in obesity (J.Biol.Chem. 2017).

研究分野：内分泌代謝内科学

キーワード：ヒト脂肪組織 プリン代謝 ヒポキサンチン 尿酸 XOR グルタミン酸 アディポネクチン TCAサイクル

## 1. 研究開始当初の背景

内臓脂肪型肥満には産生過剰型の高尿酸血症が多いこと、内臓脂肪面積と血清尿酸値が強く相関するという申請者らの教室での臨床的観察 (*Int J Obes* 1986、*Metabolism* 1998、*Intern Med* 2008) から、脂肪組織そのものが尿酸産生しているのではないかと仮説を立て、そのことをマウスモデルで検証し報告した (Tsushima Y, Nishizawa H, *J.Biol.Chem.* 2013)。ただ、ヒト脂肪組織におけるプリン代謝については全く明らかとなっていなかった。また、脂肪組織でプリン代謝が亢進していることから、糖・脂質代謝を超えてもっと広範に代謝異常が惹起されている可能性があるが、そこについても明らかではなかった。

## 2. 研究の目的

本研究では、プリン代謝について (1) ヒト手術検体脂肪組織を用いてヒト脂肪組織で検証を行う。また肥満マウス脂肪組織で複数のアミノ酸の含量が変動していることを見出していたので、本研究ではさらにプリン代謝に加え (2) アミノ酸代謝異常や代謝物のトランスポーターに着目し、これまでされてきた糖・脂質代謝異常を含めた代謝異常との相互連関を明らかにし、さらにこれら“代謝異常”と低アディポネクチン血症をはじめとするアディポサイトカイン異常といった“内分泌異常”との接点を探索することを目的とし、細胞・動物・ヒトで検討することを目的として研究を進めた。

## 3. 研究の方法

(1) 肥満モデルマウスでの組織培養実験：肥満脂肪組織で産生、分泌変動の大きいプリン代謝物・各種アミノ酸を同定する。  
対象；肥満モデル ob/ob マウス vs. C57BL 高脂肪高シヨ糖負荷 (DIO) マウス vs. 通常食マウス。方法；マウス脂肪組織の単離培養を行い、代謝物の細胞内および培地中の変化

を検討する。

(2) マウス、培養細胞でのトランスポーターおよび代謝酵素の解析 (プロテオミクス)：変動の大きい候補代謝物の産生・輸送・分泌のメカニズムを解明する。

対象；肥満モデルマウス脂肪組織 cell lysate および膜分画を単離し、大阪大学医学部生体システム薬理学との共同研究で、nano LC-MS/MS システムを用いて網羅的定量プロテオミクス解析を行い、肥満モデル脂肪組織で蛋白発現変化の大きいトランスポーターのスクリーニングを行う。

(3) 代謝物添加およびトランスポーターによるアディポサイトカイン産生・分泌に対する影響：

3T3-L1 脂肪細胞への代謝物添加実験およびトランスポーター阻害実験 (薬剤、siRNA)、過剰発現実験。

(4) 肥満外科手術例の脂肪組織での検証：当院消化器外科との共同研究で大腸手術時に単離した脂肪組織を培養し、プリン代謝物の産生・分泌を検討する。

## 4. 研究成果

### (1) 肥満脂肪組織での代謝変化

### (2) ヒト脂肪組織でのプリン代謝

### (3) 肥満脂肪組織でのトランスポーター変化

について研究成果を得た。

#### (1) 肥満脂肪組織での代謝変化：

マウス肥満脂肪組織において、TCA サイクル代謝物およびグルタミン酸合成が亢進していることをメタボローム代謝動態解析の系を構築して示し、細胞内グルタミン酸増加が脂肪細胞のインスリン感受性の低下やアディポネクチン分泌低下といった脂肪細胞機能異常と関連している可能性を示した。上記データが *J. Biol.Chem.* 誌に受理され刊行された (文献 ) (学会発表

)

## (2) ヒト脂肪組織でのプリン代謝:

当院消化器外科との共同研究で得た大腸手術症例4例より内臓脂肪組織、皮下脂肪組織の組織培養を行い、ヒト脂肪組織でのプリン代謝を検討した。マウス(Tsushima Y, Nishizawa H, *J.Biol.Chem.*2013)に比して、ヒト脂肪組織においては尿酸産生酵素であるXORの発現が限定的で、それを反映して、尿酸の産生分泌は少なく、多くはヒポキサンチンの形で分泌されることを明らかにした。肥満状態を模倣する目的で、ヒト脂肪細胞を低酸素に暴露したところ、ペントースリン酸経路が活性化し、その結果ヒポキサンチンの合成が亢進する可能性をメタボローム解析によって明らかにし、論文投稿し、2018年4月2日 *Obesity* 誌に受理された(学会発表)

## (3) 肥満脂肪組織でのトランスポーター変化:

連携研究者である永森收志先生との共同研究で、膜分画蛋白の質量分析技術を用いて、コリントランスポーターの一種が肥満モデルマウス(ob/obマウスおよび食餌誘導性肥満マウス)の脂肪組織において、コントロールマウスに比べ蛋白発現が著増していることを見出した。そしてそのトランスポーターの特異的抗体を用いて、ウェスタンブロットによりマウス肥満脂肪組織で著増していることを確認した。そして細胞への一過性過剰発現系を構築し、当該コリントランスポーターの一過性過剰発現でコリン代謝物の細胞内外輸送が亢進することを確認した。その上で、脂肪組織特異的欠損マウスを樹立した。ゲノム遺伝子のPCRそして欠損マウスの当該遺伝子発現の組織分布を調べ、脂肪組織特異的に欠損できていることを確認した。またアデノウイルスを用いてマウス脂肪細胞の過剰発現を行ったところ、細胞内のコリン濃度が上昇し、ERストレス関連の遺伝子群

やアディポネクチンおよびPPAR $\gamma$ の遺伝子発現に有意な変化をもたらすことを見出した。今後遺伝子改変動物を用いて検証していく予定である。

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6件)

D Hayashi R, Yamaoka M, Nishizawa H, Fukuda S, Fujishima Y, Kimura T, Kozawa J, Kita S, Matsuoka TA, Otsuki M, Imagawa A, Ichida K, Taniguchi A, Maeda N, Funahashi T, Shimomura I. Multiple Gouty Tophi with Bone Erosion and Destruction: A Report of an Early-onset Case in an Obese Patient. *Intern Med.* 査読有、56巻、2017、1071-1077

Nagao H, Nishizawa H, Bamba T, Nakayama Y, Isozumi N, Nagamori S, Kanai Y, Tanaka Y, Kita S, Fukuda S, Funahashi T, Maeda N, Fukusaki E, Shimomura I. Increased Dynamics of Tricarboxylic Acid Cycle and Glutamate Synthesis in Obese Adipose Tissue: In vivo Metabolic Turnover Analysis. *J.Biol.Chem.* 査読有、292巻、2017、4469-4483

西澤 均、糖尿病合併高尿酸血症患者の治療のポイントを教えてください、尿酸と血糖、査読無、2巻、2016、110-111

長井直子、西澤 均、下村伊一郎、肥満症治療のための食事療法エビデンスと栄養指導の実際、医学のあゆみ、査読無、259巻、2016、1023-1028

西澤 均、下村伊一郎、XO阻害薬とメタボリックシンドローム、尿酸と血糖、査読無、1巻、2015、18-21

西澤 均、船橋 徹、肥満症・メタボリックシンドローム、ここまで明らかにな

った！尿酸代謝ワールドと高尿酸血症の病態解明～診療と医学の最前線～ メディカルレビュー社、査読無、1巻、2015、96-101

〔学会発表〕(計15件)

長尾博文、西澤 均、前田法一 他、ヒト脂肪組織におけるプリン異化代謝産物の分泌、第60回日本糖尿病学会年次学術集会、2017、愛知

西澤 均、下村伊一郎、シンポジウム「内臓脂肪蓄積と異所性脂肪/臓器連関」内臓脂肪蓄積の病態と臨床的意義、第38回日本肥満学会、2017、大阪

西澤 均、アフタヌーンティーセミナー「肥満症と高尿酸血症～肥満脂肪組織における代謝異常に着目して～」、第38回日本肥満学会、2017、大阪

長尾博文、西澤 均、前田法一 他、ヒト脂肪組織におけるプリン異化代謝の検討、第38回日本肥満学会、2017、大阪

長尾博文、西澤 均、前田法一 他、肥満脂肪組織における in vivo 代謝動態解析：グルタミン酸上昇とその病態学的意義、第89回日本内分泌学会学術総会、2016、京都

西澤 均、シンポジウム「脂肪組織 アディポサイエンスの展開」肥満脂肪組織の新しい代謝異常～メタボロミクスを用いて～、第89回日本内分泌学会学術総会、2016、京都

西澤 均、前田法一 他、ヒト脂肪組織からのプリン代謝物の分泌、第89回日本内分泌学会学術総会、2016、京都

長尾博文、西澤 均、前田法一 他、肥満脂肪組織における in vivo メタボロミクス動態解析：グルタミン酸上昇とその病態学的意義、第59回日本糖尿病学会年次学術集会、2016、京都

長尾博文、西澤 均、前田法一 他、肥満脂肪組織におけるグルタミン酸生合

成増加とその病態学的意義～メタボロミクスを用いて～、第21回アディポサイエンス・シンポジウム、2016、大阪  
西澤 均、シンポジウム「体脂肪分布による肥満症へのアプローチ」内臓脂肪蓄積の臨床的意義と病態、第37回日本肥満学会、2016、東京

長尾博文、西澤 均、前田法一 他、肥満脂肪組織におけるグルタミン酸上昇とその病態学的意義～in vivo 代謝動態解析を用いて～、第37回日本肥満学会、2016、東京

西澤 均、前田法一 他、ヒト脂肪組織からのプリン代謝物の産生と調節、第37回日本肥満学会、2016、東京

長尾博文、西澤 均、前田法一 他、肥満脂肪組織におけるアミノ酸代謝の変化、第58回日本糖尿病学会年次学術集会、2015、山口

長尾博文、西澤 均、前田法一 他、肥満脂肪組織におけるグルタミン酸上昇とその病態学的意義～メタボロミクス解析より～、第36回日本肥満学会、2015、愛知

西澤 均、日本肥満学会学術奨励賞受賞講演「内臓脂肪蓄積の病態とその臨床的意義に関する研究」、第36回日本肥満学会、2015、愛知

〔図書〕(計1件)

長尾博文、下村伊一郎、メディカルレビュー社、高尿酸血症と痛風、2018、32-37

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)  
取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

西澤 均(Nishizawa Hitoshi)

大阪大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：20379259

### (2) 研究分担者

前田 法一 (Maeda Norikazu)

大阪大学・大学院医学系研究科・寄附講座准教授

研究者番号：30506308

### (3) 連携研究者

永森 收志 (Nagamori Shushi)

大阪大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：90467572