

令和元年5月9日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09802

研究課題名(和文) アディポネクチンの細胞外小胞(エクソソーム)制御メカニズム

研究課題名(英文) Mechanism of exosome regulation by adiponectin

研究代表者

喜多 俊文(Kita, Shunbun)

大阪大学・医学系研究科・寄附講座講師

研究者番号：10746572

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：脂肪から分泌される善玉タンパク、アディポネクチンは心血管・骨格筋にT-カドヘリンという細胞表面タンパクに特徴的なメカニズムで強く結合し、その細胞内に集積し、エクソソームと呼ばれる小胞の産生を促進することで、組織の保護、再生の促進に寄与していることを明らかにしました。エクソソームは細胞の老廃物などを排出する機能と細胞同士のコミュニケーションを図る機能があり、アディポネクチンのエクソソーム産生促進作用は、善玉タンパクとされる所以を初めて明確に説明するだけでなく、今後の様々な臓器傷害治療・予防に応用されます。

研究成果の学術的意義や社会的意義

テレビなどでも時折紹介されます脂肪が出すアディポネクチンというタンパクが、どうして体に良いのかを初めてはっきりと説明できるようになりました。アディポネクチンはエクソソームという小さな粒子を細胞から出させることを見つけました。エクソソームは細胞のゴミを出すゴミ袋のようなもので、アディポネクチンはゴミ袋を増やすことで細胞をきれいに保ちます。またエクソソームは細胞同士のやり取りにも使われますが、このやり取りを活発にすることで病氣から守ることも分かりました。このような新しい理解は、将来の新しい治療薬に応用されます。

研究成果の概要(英文)：Adiponectin is known to be a beneficial secreting protein. We revealed that adiponectin accumulates in heart, vessel, and muscle through a unique high-affinity interaction with a cell-surface protein called T-cadherin. Furthermore, adiponectin stimulates exosome biogenesis and secretion, thereby contributes organ protections and regenerations. Exosome is known to be a machinery to dispose unnecessary materials to keep cellular homeostasis and a packet-signaling machinery to enhance intercellular communications. The long mystery of functional mechanism of this beneficial protein can now be clearly explained by our findings, stimulation of exosome biogenesis. We are going to apply such fundamental mechanism of adiponectin function to novel medications.

研究分野：内分泌・代謝内科学

キーワード：アディポネクチン T-カドヘリン エクソソーム セラミド 骨格筋再生 カドヘリン プロドメイン

1. 研究開始当初の背景

アディポネクチンは遺伝子発現のない動脈内皮細胞に多量に存在しており(PLoS One 2013)、電子顕微鏡観察では内皮細胞のエンドソームにも認められる (Sci Rep 2014)ので、脂肪由来のアディポネクチンが集積し、一部エンドサイトーシスされていると考えられる。アディポネクチンの結合蛋白である T-カドヘリンの欠損マウスではアディポネクチンの集積が消失するとともに、心不全や血管障害の重症化が報告される(JCI 2010, JBC 2013)が、逆にアディポネクチン欠損マウスでは、集積組織の T-カドヘリンが蛋白レベルでほとんど消失すること、このアディポネクチンによる T-カドヘリン蛋白の制御は培養細胞でも再現できることを確認していた (Endocrinology 2015)。

2. 研究の目的

アディポネクチンの特徴として、血中に非常に多量に存在することが挙げられる。これは通常ホルモンやサイトカインの千倍から百万倍に及ぶ。また 3 量体を基本構造とした多量体構造をとることが挙げられる。様々な臨床研究から高分子多量体が生理作用を発揮する活性体と考えられている。

- 何故そんなに多量に存在する必要があるのか？
- 何故複雑かつ高分子の多量体を形成する必要があるのか？

現在広く認知されている受容体を介した作用では説明不可能であり、この問いに答えることを究極の目的とした。

3. 研究の方法

培養細胞からのエクソソーム産生を量的に評価する手法として、超遠心法と WB を組み合わせた手法を設定した。

血中のエクソソームレベルを評価するために、沈殿法と超遠心を組み合わせた精製方法と WB を併せる手法を設定した。

4. 研究成果

T-カドヘリンをアフィニティーカラムにすることで、血清から多量体アディポネクチンを精製する手法を見出し、これを用いて精製したアディポネクチンを用いて、T-カドヘリンとの結合部位や親和性を明らかにした (福田、喜多ら、JBC2017)。

多量体アディポネクチンは、T-カドヘリンに結合することで、培養内皮細胞のエクソソーム産生を促進することを見出した。さらにこの作用によって内皮細胞のセラミドをエクソソームに搬出し、内皮細胞のセラミドを低下することを見出した (小幡、喜多ら、JCI Insight 2018)。本研究は、T-カドヘリンが細胞表面の単なるアディポネクチン結合タンパクではなく、アディポネクチンの作用を細胞に及ぼす受容体であることを初めて証明するものとなった。また、これまでセラミドは細胞内の代謝で完結していると想定されてきたが、エクソソームに多量に搬出され、細胞間の代謝循環を介して代謝されていることを初めて示した。その後、世界の複数の研究が同様の事象を認め、我々の研究をフォローしている。糖尿病学会、肥満学会、内分泌学会の 3 つの YIA を受賞し、製薬企業との共同研究締結をもたらし、また Keystone symposia では口頭演題に採択された。さらに、新聞報道を含め、プレスリリース等で広く紹介された。

骨格筋の再生をアディポネクチンは促進し、この促進作用発現には T-カドヘリンを必要とすることを見出した。興味深いことに、骨格筋細胞では特にその再生筋においてアディポネクチンはエクソソーム産生オルガネラである MVB に集積し、培養筋細胞でも分化に伴って T-カドヘリンの発現とアディポネクチンによるエクソソーム産生が惹起されることを見出した (田中、喜多ら、Sci Rep.2019)。

以上で見出したアディポネクチンの T-カドヘリンを介したエクソソーム産生促進作用を応用し、各種臓器傷害の新しい治療方法を開発し、AMED 橋渡し B 研究に採択される研究に成長している。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 3 件)

Tanaka Y, Kita S, Nishizawa H, Fukuda S, Fujishima Y, Obata Y, Nagao H, Masuda S, Nakamura Y, Shimizu Y, Mineo R, Natsukawa T, Funahashi T, Ranscht B, Fukada S, Maeda N, Shimomura I. Adiponectin promotes muscle regeneration through binding to T-cadherin. *Scientific Reports*. 2019;9:16 査読有 doi: 10.1038/s41598-018-37115-3

Obata Y, Kita S, Koyama Y, Fukuda S, Takeda H, Takahashi M, Fujishima Y, Nagao H, Masuda S, Tanaka Y, Nakamura Y, Nishizawa H, Funahashi T, Ranscht B, Izumi Y, Bamba T, Fukusaki E, Hanayama R, Shimada S, Maeda N, Shimomura I. Adiponectin/T-cadherin system enhances exosome biogenesis and decreases cellular ceramides by exosomal release. *JCI Insight*. 2018;3:e99680 査読有 doi: 10.1172/jci.insight.99680

Fukuda S, Kita S, Obata Y, Fujishima Y, Nagao H, Masuda S, Tanaka Y, Nishizawa H, Funahashi T, Takagi J, Maeda N, Shimomura I. The unique prodomain of T-cadherin plays a key role in adiponectin binding with the essential extracellular cadherin repeats 1 and 2. *J Biol Chem*. 2017;292:7840-7849 査読有 doi: 10.1074/jbc.M117.780734

[学会発表](計 28 件)

Shiro Fukuda, Shunbun Kita, Ichiro Shimomura: Molecular regulation of the GPI-anchored adiponectin receptor T-cadherin: Keystone Symposia, Obesity and Adipose Tissue Biology 2019

Shunbun Kita, Yuto Nakamura, Ichiro Shimomura: Symposium oral short talk: Stimulated Exosome Secretion by Adiponectin Contributes to Effectiveness of Mesenchymal Stem Cell Transplantation on Pressure Overload Heart Failure Models: Keystone Symposia, Obesity and Adipose Tissue Biology 2019

Shunbun Kita, Yuto Nakamura, Ichiro Shimomura: Poster presentation: Stimulated Exosome Secretion by Adiponectin Contributes to Effectiveness of Mesenchymal Stem Cell Transplantation on Pressure Overload Heart Failure Models: Keystone Symposia, Obesity and Adipose Tissue Biology 2019

Yuto Nakamura, Shunbun Kita, Ichiro Shimomura: Proteolytic shedding by metalloprotease ADAM12 regulates abundance of T-cadherin in pressure overload heart failure models: Keystone Symposia, Obesity and Adipose Tissue Biology 2019

福田士郎、喜多俊文、小幡佳也、藤島裕也、長尾博文、増田重樹、田中紀實、西澤 均、船橋 徹、前田法一、下村伊一郎：T-カドヘリンに特有のプロドメインはアディポネクチンとの結合において重要な役割を持つ：第 39 回日本肥満学会 2018

喜多俊文：脂肪由来内分泌因子アディポネクチンと GPI アンカー型膜蛋白 T-カドヘリンによるエクソソーム生合成制御を介するセラミド代謝調節機構：第 91 回日本生化学会大会 2018

喜多俊文、前田法一、下村伊一郎：シンポジウム「State-of-Art Cardio Metabolic Syndrome」Exosome biogenesis mediated vascular protection by adiponectin/ T-cadherin system：第 66 回日本心臓病学会学術集会 2018

田中紀實、喜多俊文、深田宗一郎、西澤 均、中村勇斗、清水有理、嶺尾良平、増田重樹、小幡佳也、長尾博文、福田士郎、藤島裕也、前田法一、下村伊一郎：骨格筋再生におけるアディポネクチン・T-カドヘリンの役割についての検討：第 61 回日本糖尿病学会年次学術集会 2018

小幡佳也、福田士郎、喜多俊文、前田法一、下村伊一郎：シンポジウム「Adipobiology 研究の最前線」アディポネクチンの T-カドヘリンを介した新たな臓器保護作用メカニズム：

第 61 回日本糖尿病学会年次学術集会 2018

福田士郎、喜多俊文、小幡佳也、藤島裕也、長尾博文、増田重樹、田中紀實、西澤 均、船橋 徹、前田法一、下村伊一郎：T-カドヘリンにおけるアディポネクチン結合ドメインの同定および T-カドヘリンプロドメインの重要性について：第 91 回日本内分泌学会学術総会 2018

喜多俊文、中村勇斗、福田士郎、小幡佳也、嶺尾良平、清水有理、田中紀實、長尾博文、増田重樹、藤島裕也、西澤 均、前田法一、下村伊一郎：アディポネクチン結合蛋白 T-カドヘリンのメタロプロテアーゼ ADAM12 による切断制御：第 91 回日本内分泌学会学術総会 2018

嶺尾良平、喜多俊文、中村勇斗、福田士郎、小幡佳也、田中紀實、長尾博文、増田重樹、清水有理、藤島裕也、西澤 均、前田法一、下村伊一郎：アディポネクチン/T-カドヘリンシステムと ER ストレスの関連：第 91 回日本内分泌学会学術総会 2018

中村勇斗、喜多俊文、嶺尾良平、福田士郎、小幡佳也、田中紀實、長尾博文、増田重樹、清水有理、藤島裕也、西澤 均、前田法一、下村伊一郎：慢性心不全モデルにおけるアディポネクチン/T-カドヘリンシステム：第 91 回日本内分泌学会学術総会 2018

喜多俊文：Exosome-mediated vascular protection by adiponectin/T-cadherin system：Cardio Renal Diabetes Conference 2018

喜多俊文：シンポジウム「エクソソームと心血管疾患」脂肪由来内分泌因子アディポネクチンと GPI アンカー型膜蛋白 T-カドヘリンによるエクソソーム生合成制御を介する心血管代謝調節機構：CVMW2017 心血管代謝週間 2017

小幡佳也、喜多俊文、藤島裕也、福田士郎、長尾博文、増田重樹、田中紀實、西澤 均、船橋 徹、前田法一、下村伊一郎：アディポネクチンの T-カドヘリンを介したエクソソーム調節機構の解明：第 38 回日本肥満学会 2017

喜多俊文：シンポジウム「アディポサイトカイン学 up to date」T-カドヘリンを介するアディポネクチンの臓器保護作用メカニズム：第 38 回日本肥満学会 2017

田中紀實、喜多俊文、西澤 均、清水有理、嶺尾良平、増田重樹、小幡佳也、長尾博文、福田士郎、藤島裕也、前田法一、船橋 徹、下村伊一郎：骨格筋再生におけるアディポネクチン・T-カドヘリンの役割についての検討：第 38 回日本肥満学会 2017

福田士郎、喜多俊文、小幡佳也、藤島裕也、長尾博文、増田重樹、田中紀實、西澤 均、船橋 徹、前田法一、下村伊一郎：T-カドヘリンにおけるアディポネクチン結合部位、およびプロドメインの重要性：第 38 回日本肥満学会 2017

喜多俊文：アディポネクチンによるエクソソーム制御：平成 29 年度自然科学研究機構 生理学研究所研究会 2017

- ⑳ 小幡佳也：アディポネクチン/T-カドヘリンによるエクソソーム産生促進とその病態生理学的意義：第 22 回アディポサイエンス・シンポジウム 2017
- ㉑ 小幡佳也、喜多俊文、藤島裕也、福田士郎、長尾博文、増田重樹、田中紀實、西澤 均、前田法一、下村伊一郎：アディポネクチン/T-カドヘリンシステムは、エクソソーム合成促進を介して細胞内セラミド含量を低下させる：第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会 2017
- ㉒ 喜多俊文、小幡佳也、藤島裕也、福田士郎、長尾博文、増田重樹、田中紀實、西澤 均、船橋 徹、前田法一、下村伊一郎：アディポネクチン結合蛋白 T-カドヘリンのメタロプロテアーゼ ADAM12 による切断制御：第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会 2017

- ②4 福田士郎、喜多俊文、増田重樹、小幡佳也、田中紀實、長尾博文、藤島裕也、西澤 均、船橋 徹、前田法一、下村伊一郎：アディポネクチンが T-カドヘリンに結合する部位と、その増加作用に関する考察：第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会 2017
- ②5 田中紀實、喜多俊文、西澤 均、福田士郎、長尾博文、小幡佳也、増田重樹、藤島裕也、前田法一、下村伊一郎：テストステロン欠乏下での骨格筋 T-カドヘリンの遺伝子発現、アディポネクチン集積の制御に関する検討：第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会 2017
- ②6 小幡佳也、喜多俊文、藤島裕也、福田士郎、長尾博文、増田重樹、田中紀實、西澤 均、前田法一、下村伊一郎：アディポネクチンは T-カドヘリンを介してエクソソーム合成を促進し、血中エクソソーム量を正に制御する：第 90 回日本内分泌学会学術総会 2017
- ②7 Yoshinari Obata, Shunbun Kita, Yoshihisa Koyama, Yuya Fujishima, Shiro Fukuda, Hirofumi Nagao, Shigeki Masuda, Yoshimitsu Tanaka, Hitoshi Nishizawa, Tohru Funahashi, Yoshihiro Izumi, Takeshi Bamba, Eiichiro Fukusaki, Rikinari Hanayama, Shoichi Shimada, Norikazu Maeda, Iichiro Shimomura : Adiponectin/T-cadherin system regulates exosome biogenesis and systemic plasma exosome level : Keystone Symposia, Obesity and Adipose Tissue Biology 2017
- ②8 Shunbun Kita : Symposium oral short talk: Adiponectin/T-cadherin system regulates exosome biogenesis and systemic plasma exosome level : Keystone Symposia, Obesity and Adipose Tissue Biology 2017

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕

・大阪大学医学部プレスリリース、大阪大学プレスリリース

http://resou.osaka-u.ac.jp/ja/research/2018/20180419_1

・AMED 成果情報

<https://www.amed.go.jp/news/seika/kenkyu/20180604.html>

・2018.06.18 科学新聞掲載

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：前田 法一

ローマ字氏名：Maeda, Norikazu

所属研究機関名：大阪大学

部局名：医学系研究科

職名：寄附講座准教授

研究者番号(8桁): 30506308

研究分担者氏名：西澤 均

ローマ字氏名：Nishizawa, Hitoshi

所属研究機関名：大阪大学

部局名：医学系研究科

職名：講師

研究者番号(8桁): 20379259

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。