

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K09832

研究課題名(和文) 骨格筋アドレナリン抵抗性が代謝制御に及ぼす影響とその発症メカニズムの解析

研究課題名(英文) Analysis of the pathogenic mechanisms of adrenaline resistance in skeletal muscle

研究代表者

野村 和弘 (Nomura, Kazuhiro)

神戸大学・医学部附属病院・特定助教

研究者番号：70450236

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)：我々はこれまでに、骨格筋の β 2アドレナリンシグナルが骨格筋のエネルギー代謝に重要な役割を担うことを明らかにしている。本研究から、肥満の骨格筋では β 2アドレナリンシグナルの減弱を認め、「アドレナリン抵抗性」というべき状態が生じ、肥満を増悪させることを明らかにした。肥満において骨格筋の β 2アドレナリン受容体遺伝子プロモーター領域では、DNAが高メチル化状態にあり、 β 2アドレナリン受容体遺伝子の発現低下を介して、「アドレナリン抵抗性」の原因となる可能性が考えられた。骨格筋のアドレナリンシグナルは、体重や骨格筋量の制御に重要な役割を担い、これらのシグナルの減弱が肥満病態形成に関与すると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肥満者ではエネルギー消費の減弱により、「より肥満しやすい状況」に陥るといった悪循環を発症することが知られていたが、この分子機構は十分に明らかではなかった。今回見出した「肥満によって生じる骨格筋のアドレナリン抵抗性」という現象は、このような「肥満における悪循環」の形成メカニズムの一端を担う可能性がある。本研究により、骨格筋のアドレナリンシグナルが全身の代謝制御に及ぼす影響とともに、骨格筋のアドレナリン抵抗性の病理的意義と発症機構が明らかとなれば、個体の代謝制御に関するより深い理解が得られるだけでなく、肥満を始めとした種々の代謝疾患に対する新規な治療法の開発に繋がる可能性もあり、その意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：I have generated mice lacking β 2-adrenergic receptors in skeletal muscle and found that skeletal muscle-specific β 2 adrenergic receptor knockout mice were exercise non-responders. It showed that β 2-adrenergic signaling plays an important role in metabolic adaptation during exercise. In addition, the increase in energy expenditure in response to β 2-adrenergic stimuli was impaired in obese mice. These findings indicate that obesity triggers “adrenaline resistance”.

In skeletal muscle of obese animals, the expression of β 2-adrenergic receptor (Adrb2) mRNA was reduced and the percentage of methylated CpG sites in the Adrb2 promoter was increased, which likely explain the mechanism of “adrenaline resistance”. Our data suggest that epigenetic regulation of Adrb2 is likely to contribute to the reduction of this gene in obese skeletal muscle, and dysregulation of β 2-adrenergic signaling might be involved in the development of obesity.

研究分野：糖尿病代謝学

キーワード：骨格筋 運動 肥満 エネルギー代謝

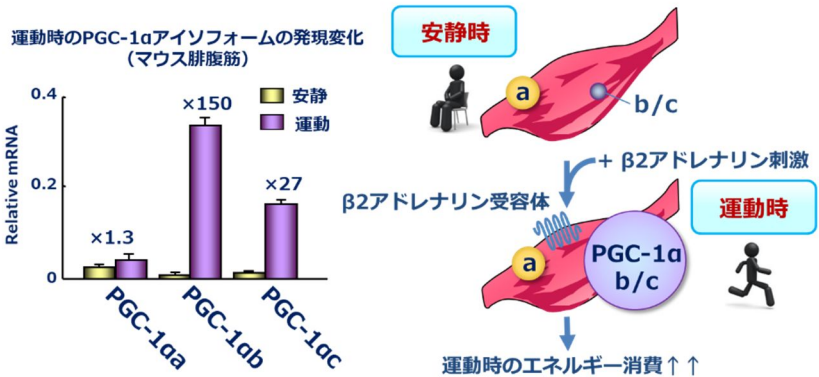
1. 研究開始当初の背景

“Fight or Flight Response”と呼ばれるアドレナリンシグナルの活性化は緊急時の生体反応であり、骨格筋に優先的に酸素やエネルギーを供給することにより、生体の運動能力を瞬時に活性化するシステムである。一方、アドレナリンシグナルが体重や脂肪量の制御に関与することも広く知られている。しかし、その効果は主に白色脂肪組織における脂肪分解と褐色脂肪組織におけるエネルギー消費の刺激によると考えられており、アドレナリンシグナルの骨格筋におけるエネルギー代謝制御への影響や、骨格筋のアドレナリン作用と体重や脂肪量制御との関連は明らかではない。

代表者らは、これまでに運動時の骨格筋におけるエネルギー代謝の増大には、 $\beta 2$ アドレナリン受容体を介した PGC-1 α (peroxisome proliferators-activated receptor (PPAR γ) coactivator-1 α) 新規アイソフォームの発現増加が重要な機能を果たすことを明らかとしている。PGC-1 α は骨格筋や褐色脂肪組織においてミトコンドリア機能や熱産生を制御し、エネルギー代謝調節に重要な機能を果たす転写コアクチベーターである。特に運動時は骨格筋でその発現が増大することが知られているが、その本体は代表者らが見出した PGC-1 α 新規アイソフォーム (PGC-1ab/c) であった (図 1)。さらに、骨格筋における PGC-1ab/c の発現誘導には $\beta 2$ アドレナリンシグナルが重要な役割を担うこと、また、肥満モデルマウスの骨格筋では $\beta 2$ アドレナリンシグナルの減弱、すなわち「骨格筋のアドレナリン抵抗性」と

いうべき病態が生じていることも見出している (図 2)。このような知見から骨格筋における $\beta 2$ アドレナリン受容体を介した情報伝達が、運動能力の活性化のみならず、全身の代謝制御や肥満の病態形成にも関与するという仮説の着想に至った。

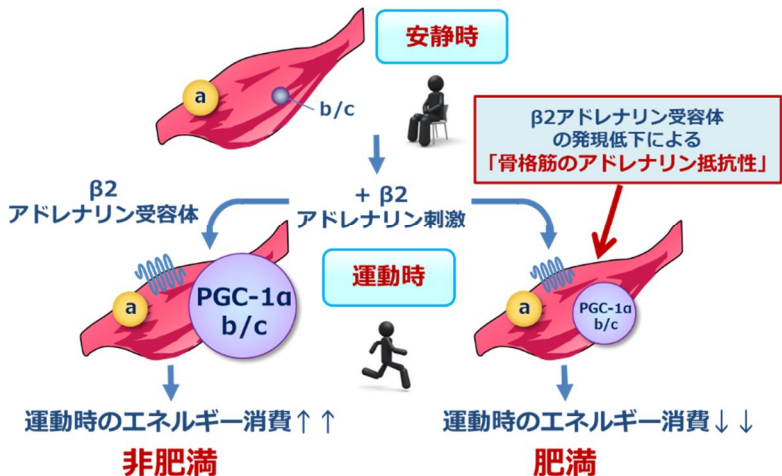
図1. 骨格筋では $\beta 2$ アドレナリンシグナルを介したPGC-1ab/cの発現増加がエネルギー代謝に重要



2. 研究の目的

本研究では、骨格筋における β アドレナリンシグナルが、全身の代謝制御や肥満の病態形成において果たす役割を明らかにする。具体的には骨格筋特異的 $\beta 2$ アドレナリン受容体欠損マウスの解析を通じて、骨格筋のアドレナリンシグナルの減弱や増強が個体レベルでのエネルギー消費にどのような影響を及ぼすかについて解析す

図2. 「骨格筋のアドレナリン抵抗性」はPGC-1ab/cの誘導不全を介して肥満をもたらす



る。また、代表者が見出した「骨格筋のアドレナリン抵抗性」という全く新規な現象が肥満の発症・増悪に寄与するという仮説を検証するとともに、その発症の分子メカニズムの解明を目指す（図2）。

3. 研究の方法

β2 アドレナリンシグナル減弱マウス(骨格筋特異的 β2 アドレナリン受容体欠損マウス)の解析

代表者らは、運動時のエネルギー消費制御における骨格筋の β2 アドレナリンシグナルの重要性を明らかとするため、β2 アドレナリン受容体遺伝子 flox マウスと MILC1f-Cre マウスの交配により、骨格筋特異的 β2 アドレナリン受容体欠損マウスを作製し、解析した。

骨格筋のアドレナリン抵抗性発症メカニズムの解析

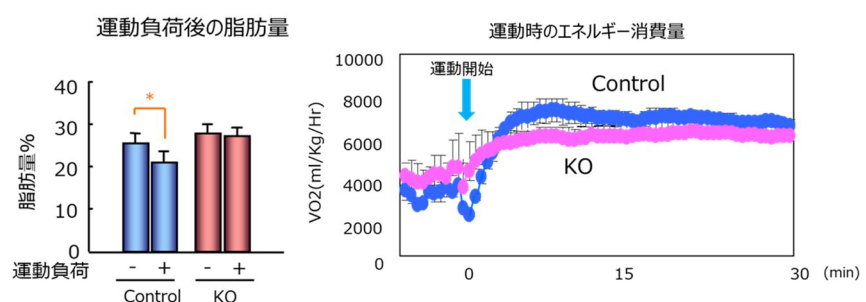
代表者は肥満マウスでは骨格筋の β2 アドレナリン受容体の遺伝子発現が低下し、アドレナリンシグナルが減弱することを見出している。肥満マウスでは栄養環境に応じたエピジェネティックな変化により β2 アドレナリン受容体の発現レベルが低下し、アドレナリンシグナルが減弱する可能性について検証した。

4. 研究成果

β2 アドレナリンシグナル減弱マウス(骨格筋特異的 β2 アドレナリン受容体欠損マウス)の解析

骨格筋特異的 β2 アドレナリン受容体欠損 (SM-Adrb2KO) マウスをトレッドミルを用いてトレーニング運動をさせ、アドレナリンシグナルを亢進させると、コントロールマウスではトレーニング効果により減量効果を認める一方で、SM-Adrb2KO マウスでは減量効果が消失していた。さらに、トレーニング運動後の糖代謝改善効果も消失しており、SM-Adrb2KO マウスは運動による代謝改善効果が発揮しにくいマウスであることが明らかとなった（図3）。これらの結果から、骨格筋のアドレナリンシグナルは運動時のエネルギー消費に重要な役割を果たすと考えられた。

図3. 骨格筋特異的β2アドレナリン受容体欠損マウスは運動時のエネルギー消費が減弱



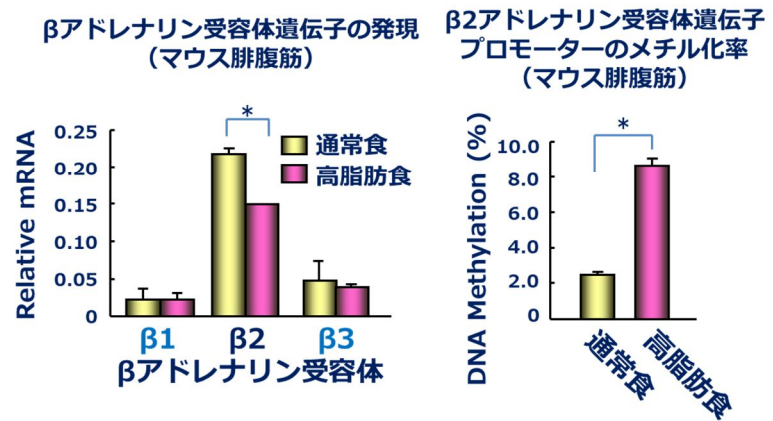
骨格筋アドレナリン抵抗性発症メカニズムの解析

肥満モデル動物の骨格筋の β2 アドレナリン受容体遺伝子プロモーター領域では、DNA が高メチル化状態にあり、これにより β2 アドレナリン受容体遺伝子の発現低下をもたらし、「アドレナリン抵抗性」の原因となる可能性が考えられた（図4）。さらにこれを検証するため、β2 アドレナリン受容体の遺伝子プロモーター領域をもつレポーターコンストラクトを構築し、*in vitro* でメチル化を導入することにより、β2 アドレナリン受容体遺伝子の転写活性を低下させるか否かについて検討した。この結果、メチル化を導入したプロモーターではレポーター活性が低下することが明らかとなり、プロモーター領域の DNA チル化が遺伝子発現を調節していると考え

られた。さらにヒト骨格筋生検試料を用いた解析でも、肥満者では $\beta 2$ アドレナリン受容体遺伝子プロモーター領域の DNA が高メチル化状態にあることが明らかとなった。

従来、運動能力の瞬時の活性化に寄与すると考えられてきた骨格筋のアドレナリンシグナルが、体重や個体レベルでのエネルギー代謝制御に重要な役割を担い、これらのシグナルの減弱が肥満の病態形成に関与すると考えられた。

図4. 肥満では $\beta 2$ アドレナリン受容体遺伝子プロモーターのメチル化亢進によりその発現低下を引き起こす



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hirata Y, Nomura K, Senga Y, Okada Y, Kobayashi K, Okamoto S, Minokoshi Y, Imamura M, Takeda S, Hosooka T, Ogawa W.	4. 巻 4
2. 論文標題 Hyperglycemia induces skeletal muscle atrophy via a WWP1-KLF15 axis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 JCI Insight.	6. 最初と最後の頁 e124952-
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1172/jci.insight.124952	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計17件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 倉本尚樹、野村和弘、小川渉
2. 発表標題 運動による筋肥大への 2アドレナリン受容体/PDK1経路の関与
3. 学会等名 第56回日本臨床分子医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野村和弘、A. Krook、J. Zierath、小川渉
2. 発表標題 肥満と老化による骨格筋機能の低下メカニズム
3. 学会等名 第40回日本肥満学会第37回日本肥満症治療学会学術集会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野村和弘、細岡哲也、佐々木努、北村忠弘、阪上浩、春日雅人、小川渉
2. 発表標題 骨格筋代謝聖書における 2アドレナリンシグナルの役割
3. 学会等名 第91回日本内分泌学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 倉本尚樹、野村和弘、細岡哲也、小川渉
2. 発表標題 運動による筋肥大にはmTOR非依存的なS6K活性化機構が関与する
3. 学会等名 第91回日本内分泌学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 野村和弘、細岡哲也、佐々木努、北村忠弘、阪上浩、春日雅人、小川渉
2. 発表標題 骨格筋代謝聖書における 2アドレナリンシグナルの役割
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 倉本尚樹、野村和弘、細岡哲也、小川渉
2. 発表標題 PK1は 2アドレナリンシグナルを介した運動による筋肥大に関与する
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小川渉、平田悠、野村和弘、細岡哲也
2. 発表標題 糖尿病性筋萎縮の分子機構
3. 学会等名 第4回日本筋学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 倉本尚樹、野村和弘、小川渉
2. 発表標題 運動による筋肥大には 2アドレナリンシグナルからPI3Kを介したS6K活性化機構が関与する
3. 学会等名 第4回日本筋学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 野村和弘、小川渉
2. 発表標題 「動き」によって活性化されるアドレナリンシグナルの骨格筋代謝制御における役割
3. 学会等名 第39回日本肥満学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 倉本尚樹、野村和弘、小川渉
2. 発表標題 運動による筋肥大への 2アドレナリン受容体/PDK1経路の関与
3. 学会等名 第39回日本肥満学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hirata Y, Nomura K, Senga Y, Imamura M, Takeda S, Okada Y, Burden SJ, Hosooka T, Ogawa W.
2. 発表標題 Hyperglycemia Promotes Muscle Atrophy Through the WWP1/KLF15 Pathway
3. 学会等名 78th American Diabetes Association Scientific Sessions (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 野村和弘、細岡哲也、佐々木努、北村忠弘、阪上浩、春日雅人、小川渉
2. 発表標題 エネルギー代謝制御における骨格筋アドレナリンシグナルの重要性と肥満病態形成における役割
3. 学会等名 第54回日本臨床分子医学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 野村和弘、細岡哲也、佐々木努、北村忠弘、阪上浩、春日雅人、小川渉
2. 発表標題 骨格筋アドレナリン抵抗性の代謝制御における役割
3. 学会等名 第60回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 野村和弘、細岡哲也、佐々木努、北村忠弘、阪上浩、春日雅人、小川渉
2. 発表標題 エネルギー代謝制御における骨格筋アドレナリンシグナルの重要性と肥満病態形成における役割
3. 学会等名 第3回日本筋学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 野村和弘、小川渉
2. 発表標題 肥満・加齢における骨格筋の質的・量的変化制御のメカニズム
3. 学会等名 第38回日本肥満学会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 野村和弘、小川渉
2. 発表標題 骨格筋代謝制御における 2アドレナリンシグナルの役割
3. 学会等名 第32回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kazuhiro Nomura, Masato Kasuga, Wataru Ogawa
2. 発表標題 Role of Novel variants of PGC-1 in the pathogenesis of obesity
3. 学会等名 International Symposium on Insulin Receptor and Insulin Action (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

神戸大学大学院医学研究科 糖尿病・内分泌内科学部門 http://www.med.kobe-u.ac.jp/im2/
--

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------