

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18K06662

研究課題名（和文）肥満発症過程における視床下部ガングリオシドの量的・質的变化と受容体機能調節機構

研究課題名（英文）Quantitative/qualitative changes of hypothalamic gangliosides and the regulatory mechanism of receptor functions in the development of obesity

研究代表者

稲森 啓一郎（Inamori, Kei-ichiro）

東北医科薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：70710375

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：過食・高脂肪食摂取は視床下部におけるストレス・炎症などを介してレプチン応答性不全を生じ、摂食・代謝調節機能異常を導くが、その詳細な分子機序には不明な点が多い。我々は、過食・肥満モデルマウスにおいて糖脂質ガングリオシド合成酵素GM3Sを欠損させると体重・摂餌量が著しく低下することを見出し、ガングリオシドが視床下部のレプチン受容体シグナルを調節していることを明らかにした。さらに、GM3S欠損マウスでは高脂肪食誘導性の視床下部炎症が抑えられており、摂食・代謝調節における新たなガングリオシドの機能的役割が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

過栄養や運動不足に代表される現代の生活習慣により肥満が増加しており、メタボリックシンドロームが糖尿病や心臓、血管の病気の危険因子として注目されている。高脂肪食の過剰摂取が、脳の摂食制御・エネルギー代謝の司令塔である視床下部におけるストレス・炎症などを介してレプチン応答性不全を生じ、摂食・代謝調節機能異常を導くことが知られている。また、肥満度が高い人ほど視床下部の炎症による神経損傷がみられたという報告もあり、それが食欲や体重の増加につながるとも考えられている。ガングリオシドの量を調節することで摂食・エネルギー消費を制御することが可能になれば、新規の抗肥満薬・治療へとつながることが期待される。

研究成果の概要（英文）：Hyperphagia/high-fat-diet consumption causes impaired leptin responsiveness through stress or inflammation in hypothalamus. However, the precise mechanisms remain to be elucidated. We found that in hyperphagic obese model, mice with knockout of glycolipid ganglioside synthase GM3S displayed significantly lower body weight and food intake, and that gangliosides modulate hypothalamic leptin receptor signaling. Furthermore, we found that high-fat-diet-induced hypothalamic inflammation was suppressed in the GM3S knockout mice, suggesting that a novel functional role of gangliosides in the control of feeding and metabolism.

研究分野：糖鎖生物学

キーワード：ガングリオシド レプチン 視床下部 高脂肪食摂取 炎症

## 1. 研究開始当初の背景

メタボリックシンドロームの発症においては、脂肪組織の慢性炎症とそれに伴うインスリン抵抗性の惹起が深く関わっている。また、高脂肪食の摂取が視床下部における種々のストレスを介してレプチン抵抗性を生じ、摂食・代謝調節機能異常へとつながることが示されているが、その詳細な分子機序には不明な点が多い。我々は、レプチン抵抗性を発症する過食・肥満モデルにおいて、糖脂質ガングリオシド GM3 合成酵素 (GM3S) を欠損するマウスを作製したところ、著明に体重・摂餌量の増加が抑えられ、視床下部においてレプチン応答性が有意に維持されていることを見出している。しかし、その根底にあるメカニズムは不明であった。

## 2. 研究の目的

糖脂質ガングリオシドは、生体膜の微小領域を構成する成分の一つとしてシグナル伝達などに深く関わっており、その生合成経路の出発物質であるガングリオシド GM3 は、肥満による脂肪組織の慢性炎症に伴い発現が増加し、2型糖尿病・高脂血症の患者においては血中濃度の上昇が認められる。本研究では、肥満発症過程において生じる視床下部のストレス下でのガングリオシド分子種の量的・質的变化と、それが摂食・代謝調節機能に重要な受容体シグナルに与える影響を検討し、肥満発症過程でのエネルギー恒常性維持機構におけるガングリオシドの役割を明らかにする。

## 3. 研究の方法

- (1) 高脂肪食摂取により誘導される視床下部ストレスにおけるガングリオシドの発現変化について調べ、特異的に変化する分子種の同定を試みた。
- (2) ガングリオシドの発現変化がレプチン受容体を介した摂食・代謝調節シグナルに与える影響について検討を行った。
- (3) 野生型およびガングリオシド GM3S 欠損マウスにおいて高脂肪食負荷を行い、摂食・代謝調節機能に重要な受容体シグナルに影響を与えられと考えられる視床下部炎症に差がみられるかどうか検討を行った。さらに、細胞株を用いて炎症応答について検討を行った。

## 4. 研究成果

(1) について、当初、C57BL/6 系統のマウスを用いて高脂肪食負荷による視床下部炎症の惹起を試みたが、8週間程度では TNF- $\alpha$  遺伝子の有意な発現上昇はみられなかった。そこで、より早期に肥満を発症する KK マウスを用いたところ、4週間で視床下部における炎症性サイトカイン TNF- $\alpha$  遺伝子の発現上昇が確認できた。一方で、ガングリオシド合成に関わる種々の合成酵素遺伝子群の発現について大きく変化するものは見いだせなかった。採取した視床下部サンプルを Folch 法にて抽出し脂質解析を行った。しかし、ガングリオシドの明らかな発現変化は見いだせなかった。

(2) について、視床下部由来神経細胞株より作製した GM3S 欠損細胞を用いてレプチン応答性を検討した (図1)。摂食・エネルギー代謝に関わるレプチン受容体の下流シグナルとして STAT3 および ERK のリン酸化に着目し野生型細胞との比較を行ったところ、GM3S 欠損細胞ではレプチン添加による STAT3 のリン酸化 (pSTAT3) が減弱していたが、一方で ERK のリン酸化 (pERK) が大きく亢進していた (図2)。レプチン受容体下流の ERK 活性化は、STAT3 活性化と同じく視床下部の摂食・代謝調節機能に重要であることが報告されており、過食・肥満モデルマウスの病態が GM3S 欠損により著しく改善した結果の根底にあるメカニズムのひとつを明らかにした。

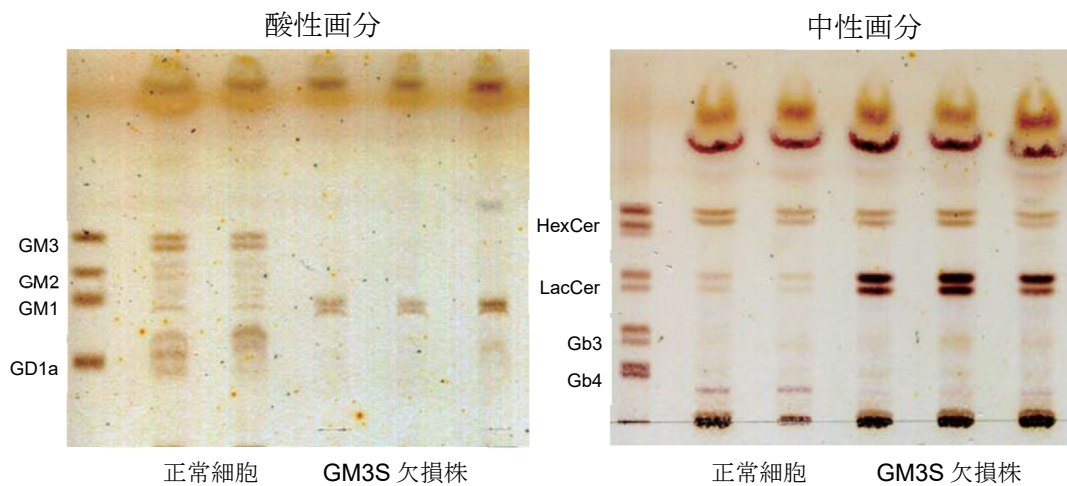


図 1. 視床下部由来神経細胞株より作製した GM3S 欠損細胞

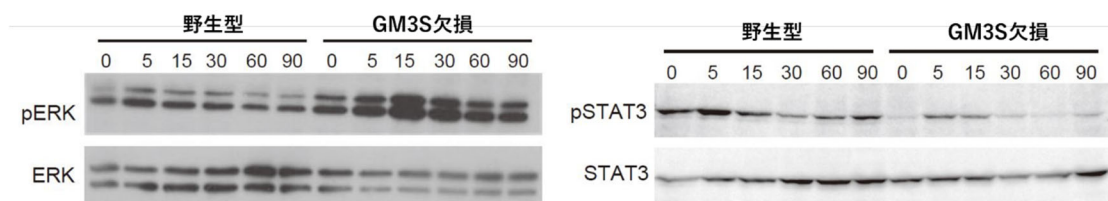


図 2. GM3S 欠損細胞を用いたレプチン応答性の検討

(3) 野生型および GM3S 欠損 KK マウスに 4 週間の高脂肪食負荷を行ったところ、GM3S 欠損マウスでは体重増加、血糖値上昇が抑制されており、視床下部の  $\text{TNF-}\alpha$  遺伝子の発現上昇が有意に抑制されていた。ガングリオシドの欠失が、脳内の免疫担当細胞であるミクログリアの活性化に与える影響を検討するため、ミクログリア細胞株において GM3S KO 細胞を作製し、炎症応答に関わる Toll 様受容体 (TLRs) の活性化を各種リガンド刺激後の培養上清中のサイトカイン分泌量により検討した。GM3S KO 細胞においては、リポ多糖などの TLR4 リガンドによる活性化が抑制されていた。以上の結果から、ガングリオシドがミクログリアの活性化調節を介して視床下部炎症の惹起を調節していることが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kano Hirohiko, Nitta Takahiro, Go Shinji, Inamori Kei-ichiro et al.	4. 巻 39
2. 論文標題 Homeostatic and pathogenic roles of GM3 ganglioside molecular species in TLR4 signaling in obesity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The EMBO Journal	6. 最初と最後の頁 e101732
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.15252/embj.2019101732	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 該当する
1. 著者名 Inamori Kei-ichiro, Inokuchi Jin-ichi	4. 巻 21
2. 論文標題 Roles of Gangliosides in Hypothalamic Control of Energy Balance: New Insights	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 5349 ~ 5349
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21155349	査読の有無 無
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 -
1. 著者名 井ノ口 仁一、稲森 啓一郎、上村 聡志、狩野 裕考、新田 昂大、二瓶 渉、穴戸 史、大野 勲、鈴木 明身	4. 巻 92
2. 論文標題 グライコリピドミクス	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 323 ~ 335
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14952/SEIKAGAKU.2020.920323	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Inamori K, Ito H, Tamura Y, Nitta T, Yang X, Nihei W, Shishido F, Imazu S, Tsukita S, Yamada T, Katagiri H, Inokuchi J	4. 巻 59
2. 論文標題 Deficient ganglioside synthesis restores responsiveness to leptin and melanocortin signaling in obese KKAY mice.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Lipid Research	6. 最初と最後の頁 1472-1481
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1194/jlr.M085753	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nihei W, Nagafuku M, Hayamizu H, Odagiri Y, Tamura Y, Kikuchi Y, Veillon L, Kanoh H, Inamori K, Arai K, Kabayama K, Fukase K, Inokuchi J	4. 巻 59
2. 論文標題 NPC1L1-dependent intestinal cholesterol absorption requires ganglioside GM3 in membrane microdomains.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Lipid Research	6. 最初と最後の頁 2181-2187
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1194/jlr.M089201	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nitta T, Kanoh H, Inamori K, Suzuki A, Takahashi T, Inokuchi J	4. 巻 29
2. 論文標題 Globo-series glycosphingolipids enhance Toll-like receptor 4-mediated inflammation and play a pathophysiological role in diabetic nephropathy.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Glycobiology	6. 最初と最後の頁 260-268
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/glycob/cwy105	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 稲森啓一郎
2. 発表標題 Glycosphingolipids in central and peripheral leptin signaling
3. 学会等名 日本薬学会 第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 稲森啓一郎, 狩野裕考, 新田昂大, 井ノ口仁一
2. 発表標題 高脂肪食負荷に伴う視床下部炎症におけるガングリオシドの機能的役割
3. 学会等名 第38回日本糖質学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 稲森啓一郎, 狩野裕考, 新田昴大, 井ノ口仁一
2. 発表標題 肥満に伴う視床下部炎症におけるガングリオシドの役割
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kei-ichiro Inamori, Hirotaka Kanoh, Takahiro Nitta, Jin-ichi Inokuchi
2. 発表標題 Glycosphingolipids and leptin signaling
3. 学会等名 11th Asian Community of Glycoscience and Glycotechnology (ACGG) Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 稲森 啓一郎
2. 発表標題 糖脂質ガングリオシドの欠損による肥満モデルマウスの病態改善および受容体シグナルへの影響
3. 学会等名 第7回AAA (Academy of Aging and Cardiovascular-Diabetes Research) (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 稲森 啓一郎, 伊藤 英樹, 田村 有美, 楊 燕華, 二瓶 渉, 宍戸 史, 突田 壮平, 山田 哲也, 片桐 秀樹, 井ノ口 仁一
2. 発表標題 ガングリオシド欠損による肥満モデルマウスの病態改善と受容体機能に与える影響
3. 学会等名 日本生化学会東北支部 第84回例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 稲森 啓一郎, 伊藤 英樹, 田村 有美, 新田 昂大, 楊 燕華, 二瓶 渉, 宍戸 史, 突田 壮平, 山田 哲也, 片桐 秀樹, 井ノ口 仁一
2. 発表標題 ガングリオシド欠損による肥満モデルマウスの病態改善および受容体機能に与える影響
3. 学会等名 第37回日本糖質学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 稲森 啓一郎, 伊藤 英樹, 田村 有美, 新田 昂大, 楊 燕華, 二瓶 渉, 宍戸 史, 突田 壮平, 山田 哲也, 片桐 秀樹, 井ノ口 仁一
2. 発表標題 ガングリオシド欠損による肥満モデルマウスの病態改善と受容体シグナルへの影響
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 稲森 啓一郎, 伊藤 英樹, 田村 有美, 新田 昂大, 楊 燕華, 二瓶 渉, 宍戸 史, 今津 進, 突田 壮平, 山田 哲也, 片桐 秀樹, 井ノ口 仁一
2. 発表標題 ガングリオシド生合成不全は肥満モデルKKayマウスのレプチンおよびメラノコルチンシグナルを改善する
3. 学会等名 第12回東北糖鎖研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 稲森 啓一郎, 伊藤 英樹, 田村 有美, 新田 昂大, 楊 燕華, 二瓶 渉, 宍戸 史, 今津 進, 突田 壮平, 山田 哲也, 片桐 秀樹, 井ノ口 仁一
2. 発表標題 ガングリオシド生合成不全によるKKayマウスの肥満病態改善と受容体機能への影響
3. 学会等名 第11回セラミド研究会 学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 稲森 啓一郎, 伊藤 英樹, 田村 有美, 新田 昂大, 楊 燕華, 二瓶 渉, 宍戸 史, 突田 壮平, 山田 哲也, 片桐 秀樹, 井ノ口 仁一
2. 発表標題 ガングリオシド欠損によるKKAyマウスの肥満病態の改善
3. 学会等名 第57回日本薬学会東北支部大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Inokuchi J, Inamori K, Kabayama K, Nagafuku M, Uemura S, Go S, Suzuki A, Ohno I, Kanoh H, Shishido F	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Academic Press	5. 総ページ数 44 (152-195)
3. 書名 Biology of GM3 ganglioside (Book Chapter in Gangliosides in Health and Diseases)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

東北医科薬科大学 薬学部研究室案内 機能病態分子学 <a href="https://www.tohoku-mpu.ac.jp/pharmacy/lab/lp_d04/">https://www.tohoku-mpu.ac.jp/pharmacy/lab/lp_d04/</a>
--

6. 研究組織						
<table border="1"> <thead> <tr> <th>氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)</th> <th>所属研究機関・部局・職 (機関番号)</th> <th>備考</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </tbody> </table>	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			
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
---------	---------