

令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K11147

研究課題名(和文)糖・脂質代謝のリプログラミングによる抗肥満効果

研究課題名(英文)Anti-obesity effect by re-programming glycolysis and lipogenesis

研究代表者

鈴木 敬一郎 (Suzuki, Keiichiro)

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号：70221322

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)：糖・脂質代謝に関与する転写因子ChREBPの欠損マウスは高シヨ糖食下でも体重が増加しにくい。ChREBPの活性化を抑制できれば、肥満を予防・治療できることが期待される。よって本研究は、エネルギー消費の自立的調節に関するタンパク質UCP1に着目し、ChREBPの阻害が体重増加を含めたメタボリックシンドロームを改善できるかどうかを検討した。

ChREBPを介したエネルギー代謝調節機構の解明を行うことで、ChREBPが抗肥満のターゲット分子の一つであることを明らかとした。転写因子による抗肥満作用を知ることが、学術的・臨床応用的にも意義が大きく、メタボリックシンドロームの治療と予防に役立つと期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

飽食の時代となった今日では慢性的な運動不足と相まって、肥満や糖尿病はメタボリックシンドロームの原因となっている。特に2型糖尿病の患者数は国内では316万6000人ほどであり、治療法としてはカロリー制限や生活指導、さらには薬物療法に頼らざるを得ず、患者のQOLの改善には依然として課題が残っている。

そこで新しいコンセプトを有した治療薬の開発は有意義であると思われる。転写因子ChREBPは糖・脂質代謝に関連する酵素群の発現量を調節しているので、活性化(核内への移行阻害)を阻害すれば、肥満、血糖値の改善、脂質代謝の異常改善が見込まれ、新たな肥満症や2型糖尿病の治療薬となりうると考える。

研究成果の概要(英文)：ChREBP deficient mice have been reported to improve obesity. The purpose of this study is to focus on the protein UCP1, which is involved in the autonomous regulation of energy consumption, and to investigate the effect of ChREBP on UCP1 expression level and activation.

By elucidating the mechanism of energy metabolism regulation mediated by ChREBP, it was clarified that ChREBP is one of the target molecules for anti-obesity. Knowing the anti-obesity effect of transcription factors is of great academic and clinical application, and is expected to be useful for the treatment and prevention of metabolic syndrome.

研究分野：糖・脂質代謝

キーワード：ChREBP 転写因子 肥満 糖尿病

## 1. 研究開始当初の背景

肥満や高血糖などを含むメタボリックシンドロームは、近年増加の一途をたどり、重大な問題となっている。過剰に摂取された糖質は速やかに単糖類への消化を経て、小腸より吸収される。その後、解糖系、脂肪酸合成系を経て脂肪酸や中性脂肪に変換、蓄積される。これらが肥満を含めたメタボリックシンドロームの主な原因となっている。糖質から脂肪酸合成経路には、多岐にわたる酵素群が関与しておりこれらの経路を担う酵素群は、翻訳後修飾や、ホルモン合成、分泌、栄養摂取などにより制御されている。

これらの酵素群の発現を「正」に制御している転写因子の一つとしてグルコース応答性をもつ ChREBP (carbohydrate response element binding protein) がある。ChREBP は特に肝臓において解糖系の律速酵素のひとつである L-PK (Liver-type Pyruvate Kinase) や脂質合成系の FAS (Fatty Acid Synthase)、ACC (Acetyl CoA Carboxylase) の転写を調節している。同様の機能を持つ SREBP1c (Sterol-response element binding protein) に比べて、ChREBP には不明な点が多く、特に ChREBP 自体の調節メカニズムがよく分かっていなかった。

そこで我々は ChREBP の活性化メカニズムの解明を行い、従来報告されていたリン酸化・脱リン酸化以外に、O-GlcNAc 修飾が核移行への必要な働きをすることや、相互作用するタンパク質 14-3-3 との結合、および結合ドメインの決定などを明らかとしてきた。

また ChREBP KO マウスを用いた検討では、高シヨ糖食付加でも体重増加や血糖値の上昇が認められないことを見つけた。これより、ChREBP の活性化を抑制すれば肥満などを含む生活習慣病の予防や治療薬の開発に発展できることが期待される。

## 2. 研究の目的

そこで、本研究課題は ChREBP KO マウスに見られる抗肥満作用のメカニズムの解明を行いつつ、糖・脂質代謝を大きくリプログラミングすることで生活習慣病を改善できる可能性を追求することである。具体的には

ChREBP KO マウスの高シヨ糖食下における体重増加を認めない原因の解明

ChREBP KO マウスの白色および褐色脂肪組織の詳細な解析

ChREBP の脂肪細胞の分化・誘導への関与の検討

ChREBP 活性化の阻害剤探索

である。

## 3. 研究の方法

ChREBP KO マウスと野生型マウスの両者をそれぞれ 2 群に分け、通常食と高シヨ糖食を与える。ある一定期間ダイエットを行ったのち、臓器をサンプリングし種々の実験に使用する。実験方法は以下のものである。

### (1) 脂肪組織の解析

mRNA 量はリアルタイム PCR 法により測定し、タンパクの発現量はウエスタンブロット法により行う。

脂肪組織の切片を作製し、各種特異抗体を用いて免疫染色を行う。

電子顕微鏡により形態学的観察を行う。

ミトコンドリアの機能評価を行う。例えば ATP 合成能を測定する。

### (2) 脂肪細胞の分化・誘導への関与の検討

3T3L1 細胞を使用し、分化前と後とで ChREBP の発現量に差があるのかを検討する。

ChREBP を強発現した細胞が、誘導剤なしでも分化するのかを検討する。

### (3) ChREBP 活性化を阻害する化合物の探索

市販ベースの化合物ライブラリーより、ルシフェラーゼアッセイを利用して転写活性を阻害する化合物をスクリーニングする。

いくつか候補が見つかったら、細胞に添加し、顕微鏡にて ChREBP の核移行が阻害されるかを検討する。

## 4. 研究成果

ChREBP KO マウスと野生型マウスに 1 から最大 30 日間通常食を与え、褐色脂肪組織の

サンプリングを行った。褐色脂肪組織における脱共役タンパク質 UCP1 の発現量をウエスタンブロットにより確認したところ、KO マウスで有意に増加していた。この UCP1 は、褐色脂肪組織で脂肪分解にも深く関わっており、発現量が増加していることから KO マウスでは脂肪がより多く分解されている可能性が示唆された。

また、ミトコンドリアの機能評価を行ったところ、KO マウスでは ATP 産生能が顕著に低下していることが判明した。同時に、電子伝達系複合体の発現量を解析したところ、KO マウスで増加していた。これにより、ミトコンドリアの膜管腔に蓄積した H<sup>+</sup>が増加するわけだが、UCP1 により脱共役されることでキャンセルされることが考えられる。

さらに、質量分析により KO マウスの褐色脂肪組織では脂肪酸合成酵素 (FAS) が全く発現していないことを見つけた。その他臓器、肝臓、白色脂肪、腎臓などでは WT と変わらず発現していることから、FAS の発現低下は褐色脂肪特異的であると予想される。以上のことから、KO の褐色脂肪組織では *de novo* 合成される脂肪酸は減少し、蓄積した中性脂肪は UCP1 の増加からも分かるように積極的に燃焼されやすい状態にあり、この結果として肥満になりにくいことが示唆される。

よって ChREBP 活性化の阻害剤開発は肥満を改善、抑制できる可能性がある。そこで、化合物ライブラリーより阻害効果の認められるリード化合物の探索を行った結果、候補となる薬物を得ることができた。今後は、これらの阻害効果を細胞レベル、小動物レベルで確認する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Haruhiko Sakiyama, Lan Li, Sachi Kuwahara-Otani, Tsutomu Nakagawa, Hironobu Eguchi, Daisaku Yoshihara, Masakazu Shinohara, Noriko Fujiwara, Keiichiro Suzuki	4. 巻 -
2. 論文標題 A lack of ChREBP inhibits mitochondrial cristae formation in brown adipose tissue	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular and Cellular Biochemistry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11010-021-04178-2	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 Lan Li, Haruhiko Sakiyama, Hironobu Eguchi, Daisaku Yoshihara, Noriko Fujiwara, Keiichiro Suzuki	4. 巻 -
2. 論文標題 Activation of the mitogen-activated protein kinase ERK1/2 signaling pathway suppresses the expression of ChREBP and in HepG2 cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/2211-5463.13208	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7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 崎山晴彦、Li Ran、中川勉、江口裕伸、吉原大作、藤原範子、鈴木敬一郎
2. 発表標題 転写因子ChREBPの脂肪組織におけるあらたな役割
3. 学会等名 日本生化学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 崎山晴彦、Li Ran、中川勉、江口裕伸、吉原大作、藤原範子、鈴木敬一郎
2. 発表標題 転写因子ChREBP欠損マウスにおける抗肥満効果に関する研究
3. 学会等名 日本酸化ストレス学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 崎山晴彦、Li Ran、中川勉、江口裕伸、吉原大作、藤原範子、鈴木敬一郎
2. 発表標題 転写因子ChREBP阻害による抗肥満効果のメカニズムの検討
3. 学会等名 日本生化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Li Ran、崎山晴彦、中川勉、江口裕伸、吉原大作、藤原範子、鈴木敬一郎
2. 発表標題 ChREBP-KOマウスの褐色脂肪組織における脂質代謝と熱産生に関する研究
3. 学会等名 日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上美奈子、崎山晴彦、江口裕伸、吉原大作、藤原範子、鈴木敬一郎
2. 発表標題 ChREBP欠損マウスが有する抗肥満作用の検討
3. 学会等名 第65回日本生化学会 近畿支部例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 崎山晴彦、中川勉、井上美奈子、江口裕伸、吉原大作、藤原範子、鈴木敬一郎
2. 発表標題 ChREBP欠損マウスが有する抗肥満作用の検討
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 崎山晴彦、Li Ran、中川勉、江口裕伸、吉原大作、藤原範子、鈴木敬一郎
2. 発表標題 転写因子ChREBP欠損マウスにおける抗肥満効果に関する研究
3. 学会等名 第28回 日本メイラード学会年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究分担者	崎山 晴彦 (Sakiyama Haruhiko)  (30508958)	兵庫医科大学・医学部・講師  (34519)	
研究分担者	江口 裕伸 (Eguchi Hironobu)  (60351798)	兵庫医科大学・医学部・講師  (34519)	
研究分担者	吉原 大作 (Yoshihara Daisaku)  (00567266)	兵庫医科大学・医学部・助教  (34519)	
研究分担者	藤原 範子 (Fujiwara Noriko)  (10368532)	兵庫医科大学・医学部・教授  (34519)	

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
---------	---------