

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月25日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591151

研究課題名（和文）

新規脂肪酸結合蛋白を標的分子としたメタボリックシンドローム治療の基礎的基盤の確立

研究課題名（英文）

The role of adipocyte-specific lipid-binding protein during the development of obesity

研究代表者

阪上 浩（SAKAUE HIROSHI）

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・准教授

研究者番号：60372645

研究成果の概要（和文）：申請者が新たに見出した新規脂肪酸結合タンパク質 ALBP による脂肪細胞肥大化の制御機構を明らかとし、ALBP による脂肪酸代謝制御機構を治療標的とした小分子化合物などの創薬や医療への応用における基盤確立にある。脂肪組織の肥大化に伴いその発現が著しく亢進すること、及び ALBP ノックアウトマウスが肥満に抵抗することを考慮すると、ALBP は脂肪蓄積に必須の分子であることが明らかとなった。ALBP による脂肪細胞肥大化の制御機構が細胞骨格制御によるものであることが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：The worldwide epidemic of obesity is a serious threat to public health, in part because the increase in the mass of white adipose tissue (WAT) in obese individuals increases the risk for development of type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. The available treatments for obesity have not stopped its increasing prevalence, suggesting that new therapies, as an adjunct to dietary restriction and exercise, are necessary to curtail the epidemic. The expansion of WAT during the development of obesity can occur through an increase in cell number or in cell size. We now show that the expression of adipocyte-specific lipid-binding protein (ALBP) which identified from microarray analysis increase in WAT during the development of obesity. Furthermore, the deletion of ALBP in obese mice reduced WAT mass and ameliorated insulin resistance associated with obesity. We therefore propose that ALBP is a potential target for the treatment of obesity and diabetes.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：代謝学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：(1) 脂肪酸結合蛋白、(2) 肥満、(3) 耐糖能異常、(4) 脂肪細胞、(5) Tubulin

1. 研究開始当初の背景

肥満は糖尿病などの生活習慣病やメタボリックシンドロームの主な発症要因である。

肥満の原因は、エネルギー摂取過剰や運動不足に伴う余剰エネルギーを脂肪細胞へ蓄積した結果、脂肪細胞の肥大化により脂肪組織

重量の増加による。脂肪細胞の肥大化機構とそれに伴う生活習慣病やメタボリックシンドロームの発症メカニズムに対して急速に知見が集積されつつあるが、脂肪細胞の肥大化すなわち脂肪蓄積機構を直接制御する肥満治療法は現在までのところ確立してはいない。申請者は脂肪細胞に特異的に発現する新規な脂肪酸結合タンパク質 (Adipocyte-specific lipid binding protein と命名、以下略称: ALBP) を同定し、そのノックアウトマウスが高脂肪食による肥満形成に抵抗することを見出した。

2. 研究の目的

本研究では、この新規脂肪酸結合タンパク質 ALBP による脂肪細胞肥大化の制御機構を明らかとし、ALBP による脂肪酸代謝制御機構を治療標的とした新たな肥満・メタボリックシンドローム治療の基礎的基盤の確立を目的とする。

3. 研究の方法

本研究では、

(1) 申請者が既に作製した ALBP ノックアウトマウスを用いて、高脂肪食負荷時のエネルギー過剰状態での生体のエネルギー代謝調節機構における ALBP の生理的意義を明らかとする。

(2) ALBP ノックアウトマウスに ob/ob 肥満モデルマウスを交配し、過食に伴うインスリン抵抗性発症機序における ALBP の関与を明らかとする。

(3) ALBP を過剰発現させた培養脂肪細胞並びに ALBP ノックアウトマウスから単離した脂肪細胞を用いて、細胞内の脂肪酸の代謝における ALBP の役割を明らかとし、さらに ALBP ノックアウトマウスにおける各臓器内や血中の脂肪酸分析をおこない、生体での脂肪酸代謝における ALBP の役割を明らかとする。

(4) ALBP の脂肪細胞特異的トランスジェニックマウスを作製することで、肥満誘導時の ALBP 発現増強と同様な状態を再現し、肝臓及び骨格筋でのエネルギー代謝調節機構における脂肪酸の代謝関連標的分子を明らかとする。

(5) 脂肪酸との ALBP の結合部位と結合に必要な疎水性残基を明らかとする。さらに脂肪酸との結合阻害ペプチドを作成し、マウス生体内の脂肪細胞に導入することで、ALBP の生体での分子標的としての意義を明らかとする。

(6) ALBP と結合するタンパク質を質量分析 (MALDI-TOF MS) にて同定することで、脂肪細胞内での ALBP の機能を明らかとする。

4. 研究成果

(1) 高脂肪食給餌 ALBP ノックアウトマウスの解析

ALBP ノックアウトマウスでは、高脂肪食給餌に伴う脂肪細胞の肥大化が抑制され、肥満

発症が予防された。さらに良好な糖代謝と高脂肪食によるインスリン抵抗性の発症抑制が示された。これはエネルギー消費の亢進によるもので、骨格筋における PPAR α の発現亢進によるものであることを明らかとした。

(2) 細胞内の脂肪酸代謝における ALBP の役割の解明

スキチャード解析にて ALBP の脂肪酸結合能を検討した結果、脂肪酸に結合できることを見出した。また ALBP は脂肪酸存在下で多量体を形成することを見出した。

(3) ALBP の脂肪細胞特異的トランスジェニックマウスの作製と代謝関連標的分子の同定

個体での ALBP 作用を検討するため、脂肪酸結合タンパク質である FABP4/aP2 のプロモーター 5.4kb を用いて、トランスジーンベクターを構築した。さらに現在、脂肪細胞特異的に ALBP を発現するトランスジェニックマウスの作製を試みている。

(4) ALBP の脂肪酸結合部位の同定

ALBP の脂肪酸との結合部位と結合に必要な疎水性残基を明らかとし、34個の必須アミノ酸配列を明らかとした。

(5) 脂肪酸結合阻害ペプチドの作製と肥満モデルマウスでの ALBP 阻害効果の確認

ALBP の脂肪酸結合部位を同定した。現在結合部位のペプチドを合成し、マウス脂肪組織の導入を試みている。

(6) ALBP と結合するタンパク質を質量分析 (MALDI-TOF MS) の同定と脂肪細胞内での ALBP の機能解析

ALBP が結合するタンパク質として Tubulin を同定し、脂肪細胞内で Tubulin 重合における ALBP のバンドリング作用を見出し、糖・脂肪酸輸送における ALBP の機能と Tubulin 重合の重要性を明らかとした。

以上から、本研究により ALBP による脂肪細胞肥大化の制御機構が細胞骨格制御によるものであることが明らかになった。今後、Tubulin 重合における脂肪酸の役割を解明する必要があり、ALBP-Tubulin 複合体の脂肪細胞肥大化機構の解明を必要とする。

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25件)

1. Nakagawa T, Sakaue H, et al. Membrane topology of murine glycerol-3-phosphate acyltransferase 2. *Biochem Biophys Res Commun.* 査読有 Vol.418, 2012, 506-511.2 DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.01.055

2. Tawaramoto K, Sakaue H, et al. Ablation of 3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1 (PKD1) in vascular

endothelial cells enhances insulin sensitivity by reducing visceral fat and suppressing angiogenesis. *Mol Endocrinol*. 査読有 Vol.26, 2012, 95-109.

DOI: 10.1210/me.2010-0412

3. Nagare T, Sakaue H, et al. Overexpression of KLF15 in adipocytes of mice results in down-regulation of SCD1 expression in adipocytes and consequent enhancement of glucose-induced insulin secretion. *J Biol Chem*. 査読有 Vol.286, 2011, 37458-37469.

DOI: 10.1074/jbc.M111.242651

4. Sakaue H. Regulatory mechanisms in the differentiation and proliferation of adipocyte and their failure in metabolic syndrome. *Nihon Rinsho*. 査読無 Vol.69, 2011, 206-210.

5. Hirata Y, Sakaue H, et al. Vimentin binds IRAP and is involved in GLUT4 vesicle trafficking. *Biochem Biophys Res Commun*. 査読有 Vol.405, 2011, 96-101.

DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.12.134

6. Nakaya Y, Sakaue H, et al. Severe catabolic state after an overnight fast in patients with chronic renal failure. *Nutrition*. 査読有 Vol.27, 2011, 329-332.

DOI: 10.1016/j.nut.2010.04.008

7. 阪上 浩 ほか. 飽和脂肪酸とメタボの関係は? Q&A でわかる肥満と糖尿病 査読無 Vol.10, 2011, 846-848.

8. 阪上 浩. 栄養学からみた糖尿病・肥満研究(1). 糖尿病プラクティス 査読無 Vol.28, 2011, 354-356.

9. 阪上 浩. 栄養学からみた糖尿病・肥満研究(2). 糖尿病プラクティス 査読無 Vol.28, 2011, 451-453.

10. 阪上 浩. 栄養学からみた糖尿病・肥満研究(3). 糖尿病プラクティス 査読無 Vol.28, 2011, 549-551.

11. Al-Adsani A, Sakaue H, et al. Dexamethasone treatment induces the reprogramming of pancreatic acinar cells to hepatocytes and ductal cells. *PLoS One*. 査読有 Vol.27, 2010, e13650.

DOI: 10.1371/journal.pone.0013650

12. Takashima M, Sakaue H, et al. Role of KLF15 in regulation of hepatic gluconeogenesis and metformin action. *Diabetes*. 査読有 Vol.59, 2010, 1608-1615.

DOI: 10.2337/db09-1679.

13. Yoshida M, Sakaue H, et al. High density lipoprotein inhibits the activation of sterol regulatory element-binding protein-1 in cultured cells. *FEBS Lett*. 査読有 Vol.584, 2010,

1217-1222.

DOI: 10.1016/j.febslet.2010.02.034

14. Yasue S, Sakaue H, et al. Adipose tissue-specific regulation of angiotensinogen in obese humans and mice: impact of nutritional status and adipocyte hypertrophy. *Am J Hypertens*. 査読有 Vol.23, 2010, 425-431.

DOI: 10.1038/ajh.2009.263.

15. Okada S, Sakaue H, et al. Adipose tissue-specific dysregulation of angiotensinogen by oxidative stress in obesity. *Metabolism*. 査読有 Vol.59, 2010, 1241-1251.

DOI: 10.1016/j.metabol.2009.11.016

16. Kim Chung le T, Sakaue H, et al. Exendin-4, a GLP-1 receptor agonist, directly induces adiponectin expression through protein kinase A pathway and prevents inflammatory adipokine expression. *Biochem Biophys Res Commun*. 査読有 Vol.390, 2010, 613-618.

DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.10.015

17. 阪上 浩. 脂肪細胞の数と大きさの制御機構と病態生理的意義. 内分泌・糖尿病・代謝内科 査読無 Vol.31, 2010, 519-525.

18. 中屋 豊, 阪上 浩 ほか. 経腸栄養の投与量. *臨床栄養* 査読無 Vol.116, 2010, 484-489.

19. 中屋 豊, 阪上 浩 ほか. SCCM/A. S. P. E. N. 重症患者栄養治療ガイドラインの概要. *臨床栄養* 査読無 Vol.116, 2010, 466-471.

20. 中屋 豊, 阪上 浩 ほか. 夜食. *静脈経腸栄養* 査読無 Vol.23, 2010, 1057-1062.

21. 田淵 正樹, 阪上 浩 ほか. 自発運動によるアディポネクチン分泌制御を介した脳卒中予防効果の解明. *デサントスポーツ科学* 査読無 Vol.31, 2010, 150-158.

22. Okada Y, Sakaue H, et al. Diet-induced up-regulation of gene expression in adipocytes without changes in DNA methylation. *Kobe J Med Sci*. 査読有 Vol.54, 2009, 241-249.

23. 阪上 浩. 脂肪細胞の増殖・分化機構とその調節因子. *日本臨床* 査読無 Vol.67, 2009, 222-227.

24. 阪上 浩. 基礎と臨床 脂肪細胞の発生・分化とアディポサイエンス. *Adiposcience*. 査読無 Vol.5, 2009, 356-366.

25. 阪上 浩. KLF15 による脂肪細胞制御. *Adiposcience*. 査読無 Vol.5, 2009, 9-15.

[学会発表] (計37件)

1. 中屋豊、阪上浩 ほか、腎不全患者は長時間の絶食により高度の飢餓状態に陥る、第26回日本静脈経腸栄養学会、2012.2.23、名

古市 (名古屋国際会議場)

2. 富永彩子、阪上浩 ほか、3T3-L1細胞でのレプチン発現はDNA脱メチル化と転写因子誘導の2つのステップで制御されている、第32回日本肥満学会、2011.9.23、淡路市 (淡路夢舞台国際会議場)
3. 永礼智基、阪上浩 ほか、脂肪細胞における転写因子KLF15の過剰発現はSCD1発現を抑制し、インスリン分泌を増加させる、第32回日本肥満学会 2011.9.23、淡路市 (淡路夢舞台国際会議場)
4. 谷口康子、阪上浩 ほか、アディポネクチンの自発運動制御作用の検討、第32回日本肥満学会、2011.9.23、淡路市 (淡路夢舞台国際会議場)
5. 谷口康子、阪上浩 ほか、中枢神経系におけるアディポネクチンの自発運動制御作用の検討、第54回日本糖尿病学術集会、2011.5.20、札幌市 (札幌芸術文化の館等)
6. 富永彩子、阪上浩 ほか、培養脂肪細胞でのレプチン発現はDNA脱メチル化と転写因子による活性化の2つのステップで制御されている、第54回日本糖尿病学術集会、2011.5.19、札幌市 (札幌芸術文化の館等)
7. 阪上浩 ほか、3T3-L1 脂肪細胞でのレプチン発現における DNA メチル化の意義、第84回日本内分泌学会学術総会、2011.4.22、神戸市 (神戸市国際会議場)
8. 阪上浩、白色脂肪組織のバイオロジー、第31回日本肥満学会 (招待講演) 2010.10.2、前橋市 (前橋テルサ)
9. 富永彩子、阪上浩 ほか、3T3-L1脂肪細胞でのレプチン発現に対するDNAメチル化の関与、第31回日本肥満学会、2010.10.1、前橋市 (前橋テルサ)
10. 戸田 聡美、阪上浩 ほか、自発運動制御におけるGhrelinの役割、第31回日本肥満学会、2010.10.1、前橋市 (前橋テルサ)
11. 小塚 智沙代、阪上浩 ほか、酸化ストレスによる肥満脂肪組織特異的なアンジオテンシノジェン発現調節異常、第53回日本糖尿病学術集会、2010.5.27、岡山市 (岡山コンペティションセンター等)
12. 平田 容子、阪上浩 ほか、Vimentinは、GLUT4小胞蛋白IRAPと結合し糖取り込みを調節する、第53回日本糖尿病学術集会、2010.5.27、岡山市 (岡山コンペティションセンター等)
13. 戸田 聡美、阪上浩 ほか、自発運動制御におけるGhrelinの役割、第53回日本糖尿病学術集会、第53回日本糖尿病学術集会、2010.5.27、岡山市 (岡山コンペティションセンター等)
14. Bayasgalan Jambaldorj、阪上浩 ほか、CSP1 involved in insulin resistance by attenuating Glut4 vesicle docking with

plasma membrane、第53回日本糖尿病学術集会、2010.5.27、岡山市 (岡山コンペティションセンター等)

15. Chung TK Le、阪上浩 ほか、Exendin-4 induces adiponectin expression via protein kinase A pathway and prevents inflammatory adipokine expression、第53回日本糖尿病学術集会、2010.5.27、岡山市 (岡山コンペティションセンター等)
16. 阪上浩 ほか、肥満関連遺伝子の発現制御におけるDNAメチル化の意義、第64回日本栄養・食糧学会大会、2010.5.22、徳島市 (アステイ徳島)
17. 田淵 正樹、阪上浩 ほか、脳卒中自然発症ラットを用いた非メタボリックシンドローム型脳卒中発症予防法の検討、第64回日本栄養・食糧学会大会、2010.5.22、徳島市 (アステイ徳島)
18. 戸田 聡美、阪上浩 ほか、自発運動制御におけるGhrelinの役割、第64回日本栄養・食糧学会大会、2010.5.22、徳島市 (アステイ徳島)
19. 中川 忠彦、阪上浩 ほか、Glycerol-3-phosphate acyltransferase2の膜トポロジー解析、第64回日本栄養・食糧学会大会、2010.5.22、徳島市 (アステイ徳島)
20. 阪上浩、脂肪細胞数の制御機構と炎症、第44回糖尿病学の進歩・シンポジウム (招待講演)、2010.3.6、大阪市 (大阪国際会議場)
21. 阪上浩 ほか、脳卒中モデルラットを用いた非メタボリックシンドローム型脳卒中発症予防法の検討、第13回日本病態栄養学会年次学術集会、2010.1.10、京都市 (国立京都国際会館)
22. 田中 佑佳、阪上浩 ほか、褥瘡患者において血清アルブミン値は栄養状態を表す良い指標か?、第13回日本病態栄養学会年次学術集会、2010.1.10、京都市 (国立京都国際会館)
23. 大橋 希江、阪上浩 ほか、透析患者の味覚異常における血清亜鉛値の意義についての検討、第13回日本病態栄養学会年次学術集会、2010.1.10、京都市 (国立京都国際会館)
24. 田中 佑佳、阪上浩 ほか、栄養状態と「栄養リスク」を考える、第13回日本病態栄養学会年次学術集会・シンポジウム、2010.1.10、京都市 (国立京都国際会館)
25. 木内 香奈、阪上浩 ほか、頭頸部がん患者の化学療法後にみられた高カリウム血症、第13回日本病態栄養学会年次学術集会・シンポジウム、2010.1.10、京都市 (国立京都国際会館)
26. Hiroshi Sakaue、Adipocyte turnover,

source(s) of nerves, regional differences, US-JAPAN Nutrition and Metabolism Panel Annual Symposium (招待講演)、2009. 11. 10、バトナールージュ (USA)

27. 阪上 浩、脂肪細胞数制御による肥満症治療の可能性と脂肪細胞のライフサイクル、第30回日本肥満学会・シンポジウム (招待講演)、2009. 10. 9、浜松市 (アクトシティ浜松)

28. 阪上 浩 ほか、ChIP-chipと遺伝子発現プロファイリングを用いた転写因子KLF15の新規ターゲット遺伝子の検索、第30回日本肥満学会、2009. 10. 9、浜松市 (アクトシティ浜松)

29. 小塚 智沙代、阪上 浩 ほか、酸化ストレスと炎症は肥満脂肪組織におけるアンジオテンシノジェン発現調節異常を惹起する、第30回日本肥満学会、2009. 10. 9、浜松市 (アクトシティ浜松)

30. 田淵 正樹、阪上 浩 ほか、非メタボリックシンドローム型脳卒中発症ラットにおける脳卒中発症予防法の検討、第30回日本肥満学会、2009. 10. 9、浜松市 (アクトシティ浜松)

31. Hiroshi Sakaue et al. Identification of New Target Genes of The Krüppel-like factor KLF15 with The Use of A Combination of Microarray-Based Chromatin Immunoprecipitation (ChIP-chip) and Gene Expression Analyses. 第14回アディポサイエンス研究会シンポジウム、2009. 8. 10、大阪市 (千里阪急ホテル)

32. Masaki Tabuchi, Hiroshi Sakaue, et al. Effects of voluntary exercise on adiponectin and cerebrovascular lesion in a rat spontaneous stroke model without the metabolic syndrome. 第17回日本運動生理学学会、2009. 7. 25、東京 (東京慈恵医科大学)

33. 阪上 浩 ほか、肥満関連遺伝子の発現制御におけるDNAメチル化の意義、第52回日本糖尿病学年次学術集会、2009. 5. 23、大阪市 (大阪国際会議場)

34. 小塚 智沙代、阪上 浩 ほか、炎症シグナルと酸化ストレスは肥満脂肪組織におけるアンジオテンシノジェン遺伝子発現調節異常を惹起する、第52回日本糖尿病学年次学術集会、2009. 5. 23、大阪市 (大阪国際会議場)

35. 永礼 智基、阪上 浩 ほか、ChIP-chipと遺伝子発現プロファイリングを用いた転写因子KLF15の新規標的遺伝子の検索、第52回日本糖尿病学年次学術集会、2009. 5. 23、大阪市 (大阪国際会議場)

36. 田淵 正樹、阪上 浩 ほか、脳卒中自然

発症ラットにおける血漿アディポネクチン変動の検索、第52回日本糖尿病学年次学術集会、2009. 5. 23、大阪市 (大阪国際改行)

37. 小塚 智沙代、阪上 浩 ほか、肥満脂肪組織におけるアンジオテンシノジェン遺伝子発現調節メカニズムの解析、第82回日本内分泌学会、2009. 4. 24、前橋市 (群馬県民会館)

〔図書〕 (計8件)

1. 阪上 浩、羊土社、糖尿病イラストレイテッド、2012、7
2. 阪上 浩 ほか、日本評論社、生活習慣病のくすり、2011、20
3. 阪上 浩、メディカルレビュー社、糖尿病ナビゲーター、2010、2
4. 阪上 浩、診断と治療社、糖尿病学の進歩2010、2010、5
5. 阪上 浩、文部科学省 科学技術政策研究所、サイエンスマップ2008、2010、1
6. 阪上 浩、廣済堂出版、よくわかる糖尿病、2009、18
7. 阪上 浩、中外医学社、Annual Review 糖尿病・代謝・内分泌、2009、9
8. 阪上 浩、羊土社、肥満・糖尿病の病態を解明するエネルギー代謝の最前線、2009、5

〔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
該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

阪上 浩 (SAKAUE HIROSHI)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス
研究部・准教授

研究者番号：6 0 3 7 2 6 4 5

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし