

## 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5月30日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22790111

研究課題名（和文）生理活性因子AGFによる生体システム制御の分子機構解明

研究課題名（英文）Molecular and functional analysis of bioactive factor AGF in biological control system

研究代表者

宮田 敬士 (MIYATA KEISHI)

熊本大学・大学院生命科学研究部・特任准教授

研究者番号：50398228

研究成果の概要（和文）：

生理活性因子アンジオポエチン様タンパク（AGF）の機能解析を行うために、AGF強制発現マウスを用いて検討した。AGFは、血管新生作用とは独立して、褐色脂肪組織、骨格筋組織に作用し、エネルギー代謝亢進を認めた。さらにトレッドミルによる運動負荷や寒冷刺激による体温変化を検討したところ、AGFは、走行時間、距離の延長や体温の抑制を認めた。以上より、AGFはエネルギー代謝亢進、運動耐容能の向上、低体温の抑制と有益な効果をもたらす分子であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

We investigated the function of angiopoietin-related growth factor (AGF) using AGF transgenic mice. AGF regulates enhancing of energy metabolism in a manner independent of its proangiogenic function in brown adipose tissue and skeletal muscle. Furthermore, to examine short cold-induced thermogenesis and treadmill exercise, we found that AGF transgenic mice performed significantly more work in treadmill exercise and a significantly less decline in body temperature at cold-induced thermogenesis than the wild-type control mice. Taken together, we suggested that AGF upregulates not only energy metabolism but also exercise capacity and the prevention of hypothermia.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・薬理学一般

キーワード：生理活性、メタボリックシンドローム、アンジオポエチン様因子

## 1. 研究開始当初の背景

我が国は、食生活の変化によりメタボリックシンドロームという病態が増加し、それに伴い発症する様々な生活習慣病が健康維持を脅かし、社会的にも重要な問題となっている。メタボリックシンドローム発症・進展の基盤病態の解明および新規治療法が急務である。

## 2. 研究の目的

アンジオポエチン様タンパクファミリーの1つである新規生理活性因子 AGF を同定し、その作用として血管新生、末梢組織のエネルギー消費促進、インスリン感受性亢進が明らかとなっている。本研究課題では、メタボリックシンドロームの基盤病態の発症・進展への生体防御機構に関して、AGF の代謝制御の解明及び AGF 受容体の同定および機能解析を検討する。

## 3. 研究の方法

AGF の血管新生作用が MAPK-eNOS 経路を介することを明らかにしており (Urano et al. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008)、血管新生作用を介さない本来の AGF の代謝機構を解明するため、皮膚に AGF を強制発現させた K14-AGF Tg:eNOS KO マウスを作製し、代謝ケージによる酸素消費量測定、褐色脂肪組織、骨格筋組織を含めた表現型解析を行った。また、全身に AGF を強制発現させた CAG-AGF Tg マウスにおける骨格筋組織では、PPAR  $\delta$ 、PGC-1 $\alpha$  の発現上昇および体温上昇を認めていることから (Oike et al. *Nat Med.* 2005)、トレッドミル運動負荷装置を用いた運動耐容能解析と短期寒冷刺激負荷 (4°C) による体温測定解析を行った。

## 4. 研究成果

K14-AGF Tg:eNOS KO マウスは同腹野生型に比べ、皮下脂肪量および内臓脂肪量の減少を認め、代謝ケージ測定では、酸素消費量の増加を認めた。さらに褐色脂肪組織及び骨格筋において、UCP、PPAR  $\delta$ 、PGC-1 $\beta$  の mRNA 発現量増加を認めた。血管マーカーである CD31 の mRNA 発現変化は認めなかった。また骨格筋組織では、AMPK のリン酸化、およびミトコンドリアの増加を認めた。以上より、AGF は血管新生作用とは独立して、褐色脂肪細胞、骨格筋組織においてエネルギー代謝亢進、抗肥満作用を認めることが明らかとなった。さらに、CAG-AGF Tg マウスの運動耐容能について、同腹野生型と比べ (12 及び 24 週齢)、走行時間及び走行距離の有意な延長を認めた。ヒラメ筋、大腿四頭筋の筋線維の検討については、同腹野生型と比べ、MHC-I、MHC-IIb の発現に有意な変化を認めなかった。また、短期

寒冷刺激負荷では、CAG-AGF Tg マウスは同腹野生型に比べ、2 および 4 時間後の体温低下の抑制を認めた。また、CAG-AGF Tg マウスの褐色脂肪組織では、熱産生に関する UCP1、PGC-1 $\alpha$  の RNA 発現増加だけでなく、ミトコンドリア合成に関する Nrf1、Nrf2 の有意な発現上昇を認めた。以上より、AGF はエネルギー代謝亢進だけでなく、運動耐容能の向上、低体温抑制に有益な効果をもたらす分子であることが示唆され、今後の肥満、糖尿病の新たな治療や運動耐容低下の改善、低体温症などへの治療の応用が期待される。今回、AGF 受容体の同定まで至ることができなかった。

## 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 18 件)

- ① Tazume H, Miyata K, Tian Z, Endo M, Horiguchi H, Takahashi O, Horio E, Tsukano H, Kadomatsu T, Nakashima Y, Kunitomo R, Kaneko Y, Moriyama S, Sakaguchi H, Okamoto K, Hara M, Yoshinaga T, Yoshimura K, Aoki H, Araki K, Hao H, Kawasuji M, Oike Y. *Macrophage-derived angiopoietin-like protein 2 accelerates development of abdominal aortic aneurysm. Arterioscler Thromb Vasc Biol.*、査読有、32(6):1400-9、2012.
- ② Yamakawa N, Suemasu S, Okamoto Y, Tanaka KI, Ishihara T, Asano T, Miyata K, Otsuka M, Mizushima T. *Synthesis and Biological Evaluation of Derivatives of 2- {2-Fluoro-4-[(2-oxocyclopentyl)methyl]phenyl}propanoic Acid: Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs with Low Gastric Ulcerogenic Activity.*、*J Med Chem.*、査読有、inpress、2012.
- ③ Endo M, Nakano M, Kadomatsu T, Fukuhara S, Kuroda H, Mikami S, Hato T, Aoi J, Horiguchi H, Miyata K, Odagiri H,

- Masuda T, Harada M, Horio H, Hishima T, Nomori H, Ito T, Yamamoto Y, Minami T, Okada S, Takahashi T, Mochizuki N, Iwase H, Oike Y. Tumor cell-derived angiopoietin-like protein ANGPTL2 is a critical driver of metastasis. *Cancer Res.*、査読有、72(7):1784-94.、2012.
- ④ Ogata A, Endo M, Aoi J, Takahashi O, Kadomatsu T, Miyata K, Tian Z, Jinnin M, Fukushima S, Ihn H, Oike Y. The role of angiopoietin-like protein 2 in pathogenesis of dermatomyositis. *Biochem Biophys Res Commun.*、査読有、418(3):494-9.、2012.
- ⑤ Congrains A, Kamide K, Oguro R, Yasuda O, Miyata K, Yamamoto E, Kawai T, Kusunoki H, Yamamoto H, Takeya Y, Yamamoto K, Onishi M, Sugimoto K, Katsuya T, Awata N, Ikebe K, Gondo Y, Oike Y, Ohishi M, Rakugi H. Genetic variants at the 9p21 locus contribute to atherosclerosis through modulation of ANRIL and CDKN2A/B. *Atherosclerosis.*、査読有、220(2):449-55.、2012.
- ⑥ Okazaki H, Hirakawa S, Shudou M, Nakaoka Y, Shirakata Y, Miyata K, Oike Y, Hashimoto K, Sayama K. Targeted overexpression of Angptl6/angiopoietin-related growth factor in the skin promotes angiogenesis and lymphatic vessel enlargement in response to ultraviolet B. *J Dermatol.*、査読有、39(4):366-74. 2012.
- ⑦ 宮田敬士, 尾池雄一、アンジオポエチン様因子、Vascular Medicine、査読無、8巻、2012、61-66
- ⑧ Aoi J, Endo M, Kadomatsu T, Miyata K, Nakano M, Horiguchi H, Ogata A, Odagiri H, Yano M, Araki K, Jinnin M, Ito T, Hirakawa S, Ihn H, Oike Y. Angiopoietin-like protein 2 is an important facilitator of inflammatory carcinogenesis and metastasis. *Cancer Res.*、査読有、71(24):7502-12.、2011.
- ⑨ Tian Z, Miyata K, Tabata M, Yano M, Tazume H, Aoi J, Takahashi O, Araki K, Kawasuji M, Oike Y. Nifedipine increases energy expenditure by increasing PGC-1 $\alpha$  expression in skeletal muscle. *Hypertens Res.*、査読有、34(11):1221-7.、2011.
- ⑩ Yamakawa N, Suemasu S, Matoyama M, Tanaka K, Katsu T, Miyata K, Okamoto Y, Otsuka M, Mizushima T. Synthesis and biological evaluation of loxoprofen derivatives. *Bioorg Med Chem.*、査読有、19(11):3299-311.、2011.
- ⑪ 宮田敬士, 尾池雄一、Angpt1ファミリー、日本臨牀(増刊)、査読無、69巻、2011、319-324.
- ⑫ 宮田敬士, 尾池雄一、Angpt1ファミリーとメタボリックシンドローム、Annual Review 糖尿病・代謝・内分泌2011、査読無、2011、199-207.
- ⑬ 宮田敬士, 尾池雄一、Angipoietin 関連因子、心臓、査読無、43巻、2011、610-614
- ⑭ Tsukano H, Gotoh T, Endo M, Miyata K, Tazume H, Kadomatsu T, Yano M, Iwakaki T, Kohno K, Araki K, Mizuta H, Oike Y. The endoplasmic reticulum stress-C/EBP homologous protein pathway-mediated apoptosis in macrophages contributes to the instability of atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*、査読有、30(10):1925-32.、2010.
- ⑮ Kurokawa J, Arai S, Nakashima K, Nagano H, Nishijima A, Miyata K, Ose R, Mori

M, Kubota N, Kadowaki T, Oike Y, Koga H, Febbraio M, Iwanaga T, Miyazaki T.、Macrophage-derived AIM is endocytosed into adipocytes and decreases lipid droplets via inhibition of fatty acid synthase activity.、*Cell Metab.*、査読有、11(6):479-92、2010.

⑩ Okada T, Tsukano H, Endo M, Tabata M, Miyata K, Kadomatsu T, Miyashita K, Semba K, Nakamura E, Tsukano M, Mizuta H, Oike Y.、Synoviocyte-derived angiopoietin-like protein 2 contributes to synovial chronic inflammation in rheumatoid arthritis.、*Am J Pathol.*、査読有、176(5):2309-19、2010.

⑪ Susaki E, Kaneko-Oshikawa C, Miyata K, Tabata M, Yamada T, Oike Y, Katagiri H, Nakayama KI.、Increased E4 activity in mice leads to ubiquitin-containing aggregates and degeneration of hypothalamic neurons resulting in obesity.、*J Biol Chem.*、査読有、285(20):15538-47、2010.

⑫ 宮田敬士、尾池雄一、病態におけるアンジオポエチン様因子ファミリーの役割、実験医学(増刊)、査読無、28巻、2010、1693-1697.

[学会発表] (計3件)

① 宮田敬士、Angiopoietin-Related Growth Factor (AGF) Regulates Energy Metabolism in a Manner Independent of its Proangiogenic Function.、第76回日本循環器学会学術集会、2012.3.16、福岡国際会議場(福岡)。

② 宮田敬士、Angiopoietin-related Growth Factor Has the Anti-obesity Effect through eNOS-independent Pathway.、第34回日本分子生物学会年会、2011.12.14、パシフィコ横浜(神奈川)。

③ 宮田敬士、Angptl6/AGF Regulates Energy Metabolism in a Manner Independent

of its Proangiogenic Function.、第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会、2010.12.10、神戸ポートアイランド(兵庫)。

[図書] (計0件)

[その他]  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

宮田 敬士 (MIYATA KEISHI)  
熊本大学・大学院生命科学研究部・特任准教授  
研究者番号：50398228

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：