

平成 30 年 5 月 11 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26293215

研究課題名(和文) 臓器間神経ネットワークによる体重調節の分子メカニズムの解明

研究課題名(英文) Identification of molecular mechanisms of inter-organ neuronal network in body weight regulation

研究代表者

山田 哲也 (Yamada, Tetsuya)

東北大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：90400374

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,700,000円

研究成果の概要(和文)：これまでに我々は、肝での脂肪蓄積に由来する神経シグナルが褐色脂肪組織におけるエネルギー消費を増やすというネガティブフィードバック機構を発見した。一方、肝臓からの別の神経シグナルは褐色脂肪組織のエネルギー消費を抑制し体重増加に繋がっていることも明らかになった。そこで、このような肝臓からの神経シグナルを担っている具体的な分子を同定することを目的とし本研究を行った。質量分析法を用いた網羅的なスクリーニングにより候補分子(二つのペプチドと一つの代謝産物)を見出したが、検証実験の結果、いずれも該当する分子ではなかった。以上より、ペプチドや代謝産物以外の物質が神経シグナルを担っている可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：We previously demonstrated that afferent neuronal signals are transmitted to the brain according to alterations in fat accumulation in the liver thereby enhancing energy expenditure in brown adipose tissue (BAT). On the other hand, we recently identified a novel positive-feedback system for promoting weight gain by suppressing energy expenditure in BAT when there are sign of energy abundance in the liver. The aim of this study was to detect particular molecule that is responsible for initiating afferent neuronal signal at the liver. A comprehensive screening with mass spectrometry revealed two peptides and one metabolite that could be such candidates, but after further experiments, we found out that neither of them was actually involved in the neuronal network connecting the liver and systemic energy metabolism. These results suggest that substance (s) other than peptides or metabolites might initiate the neural network at the liver.

研究分野：エネルギー代謝

キーワード：エネルギー代謝 神経

1. 研究開始当初の背景

食生活の欧米化に伴う肥満及びそれに端を発するメタボリックシンドローム患者の増加が社会的な重要課題となっている。肥満は摂取エネルギーと消費エネルギーの差の増加によって生じるが、個体にはエネルギー代謝の恒常性維持機構が備わっており、日々の食事量や活動量の変動がそのまま直接に体重の変化に反映されることはない。脳はエネルギー代謝のオーガナイザーとして重要な役割を果たしている訳だが、その為には A. エネルギー摂取臓器 (消化管など)、B. エネルギー貯蔵臓器 (白色脂肪組織、肝臓など)、C. エネルギー消費臓器 (骨格筋、褐色脂肪組織など) からの情報を受け取り、適切に処理し、A~C の臓器も含め全身の各臓器にフィードバックする必要がある。脳への入力経路には血流を介する液性因子と神経経路があると考えられる。このような臓器連関からなるメカニズムのほとんどは、過剰摂取したエネルギーを消費して体重を一定に保つ、すなわちネガティブフィードバックの機構である。一方で、人類を含め全ての哺乳類は飢餓の時代を生き抜き、その子孫を残してきた。このなかで保存されてきたのが、来るべき飢餓に備えて摂取したエネルギーを保存しておくメカニズムである備蓄機構である。これは先述のメカニズムに対比すれば、エネルギー代謝のポジティブフィードバックといえる。従来、レプチン抵抗性をその端緒な例として、ネガティブフィードバック機構の破綻が肥満の要因として捉えられ多くの研究がなされてきたが、個体のエネルギー代謝のポジティブフィードバック機構の具体的なメカニズム、ひいては肥満発症との関連解明を試みる研究はなかった。近年、我々は下記に示すように新規ネガティブフィードバック機構を複数見出してきたのみならず、最近、肥満の要因となり得るポジティブフィードバック機構が個体に存在することを発見した。

(1) 新規ネガティブフィードバック機構の発見

我々は、これまでに白色脂肪 UCP1 や肝臓 PPAR γ が発信源となり、ネガティブフィードバック機構として機能する臓器間神経ネットワーク機構を見出してきた。例えば、過栄養摂取下においては、白色脂肪にも脱共役蛋白質 (UCP1) が発現誘導されることに着目し、以下の知見を見出した。UCP1 遺伝子を肥満・糖尿病モデルマウスの腹腔内脂肪組織に後天的に遺伝子導入すると、肥満により生じていた脳・視床下部におけるレプチン抵抗性 (肥満時に過食となる主要な機構) が改善し、その結果、過食が改善することを見出し、さらにその効果は脂肪組織からの求心性神経経路を介する神経シグナルが担っているものであることを示した (*Cell Metab* 2006)。さらに、過栄養摂取下で肝臓での発現が亢進し肝での脂肪蓄積 (脂肪肝) を惹起する PPAR γ 2 遺伝子を肝臓に遺伝子導入したとこ

ろ、脂肪肝を誘発したのみならず、脂肪燃焼・基礎代謝亢進による肥満や糖尿病の改善がもたらされた。さらに、PPAR γ 2 の発現上昇を伴う肝でのエネルギー蓄積過剰の信号が迷走神経求心路を介して脳に伝達され、交感神経を活性化することで基礎代謝を亢進させるという機序が解明された (*Science* 2006)。これは、過栄養摂取に対応してエネルギー消費を増やすという新たなネガティブフィードバック機構の存在を発見したものと考えられる。

(2) ポジティブフィードバック機構の発見

最近、我々は、先述のように「個体が過栄養にさらされた際、むしろエネルギー蓄積を促進する方向に働くことで脂肪蓄積 (体重増加) を促進するポジティブフィードバック機構が存在する」という仮説のもと検討を進め、以下の知見を見出した。エネルギー摂取の増加により、肝でのグルコキナーゼ発現上昇が生じ糖代謝が亢進すると、肝臓 脳 褐色脂肪へと神経シグナルが伝わって、褐色脂肪による熱産生が低下し体重増加が生じた。このシステムはエネルギー摂取増加に呼応するエネルギー消費の低下を司っており、その観点からは個体レベルでのポジティブフィードバック機構と考えられた。さらに、このシステムの働きの違いが、肥満のなりやすさに関するマウスの系統間の違いをも説明することも解明した (*Cell Metab*. 2012)。

2. 研究の目的

本研究では、上記に示したような独自に発見した肝臓を起点とするネガティブフィードバック機構及びポジティブフィードバック機構として機能する臓器間神経ネットワークを対象に比較検討することで、肝臓において神経ネットワークの活性化の引き金となる分子の同定を目的とする。

3. 研究の方法

肝臓 (PPAR γ あるいはグルコキナーゼ) から、迷走神経求心路、脳、交感神経を介して褐色脂肪に繋がる臓器間神経ネットワーク機構は、過栄養に伴う肝臓の代謝変化が迷走神経活動を変化させる点で相似であるが、上述のように、その個体レベルでのアウトプットは全く逆である。そこで本研究では、これらの相反する作用に着目し比較検討することで、肝臓において迷走神経活動の変化に繋がる分子を同定し、肝臓 - 褐色脂肪連関の病態生理学的な意義を明らかにする。

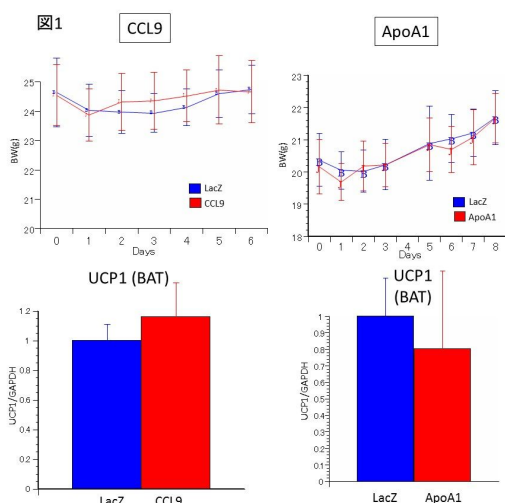
(1) 肝 PPAR γ や肝グルコキナーゼ (GK) 発現上昇で生じる代謝の変化に起因し、迷走神経活動を変化させうる候補分子を探索する。

(2) 見出された候補分子が、迷走神経求心路を介して中枢に伝達された後、褐色脂肪組織を支配する交感神経活性を変化させるか否かを詳細に調べることで、候補分子の検証を行う。

4. 研究成果

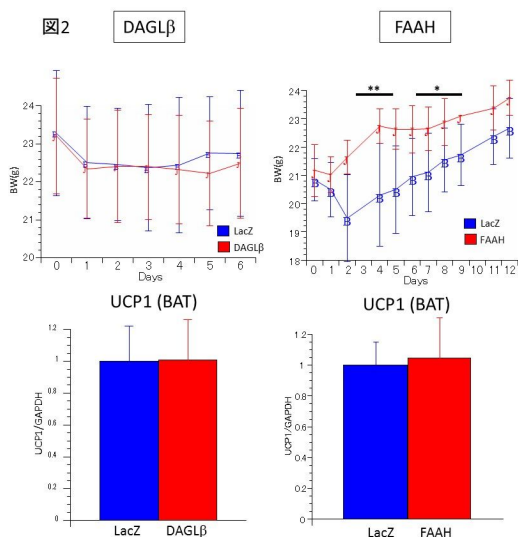
(1) プロテオームレベルでの解析

アデノウイルスベクターにより GK、PPAR γ 、を肝臓に導入したマウスから初代肝細胞を分離し、なおかつその培養上清を適切に処理、濃縮し質量分析の解析に供しプロテオーム解析を行なった。その結果、PPAR γ マウスの初代肝細胞の培養上清において、C-C motif chemokine ligand 9 (CCL9) および Apolipoprotein A-1 (ApoA1) が有意に増加していることを見出した(それぞれ、4.43 倍および 2.25 倍)。そこで、それぞれをアデノウイルスベクターを用いて肝臓に遺伝子導入したが、体重や褐色脂肪組織 (BAT) の UCP1 発現に有意な影響を及ぼさなかった (図 1)。したがって、CCL9 や ApoA1 が PPAR γ マウスに認められた肝臓から褐色脂肪組織に至る臓器間神経ネットワークを活性化する分子である可能性は低いものと考えられた。



(2) メタボロームレベルでの解析

(1) の検討で得られた候補は蛋白/ペプチドに限られる。一方、メタボライト等の低分子が迷走神経求心路の活動性を変化させている可能性も十分考えられたため、初代肝細胞の培養で得られた培養上清について質量分析計によりメタボローム解析を行こととした。上述のように、アデノウイルスベクターにより GK や PPAR γ を肝臓に導入したマウスからの初代肝細胞の培養上清を適切に



調整し、質量分析に供しメタボローム解析を行った。その結果、GK マウスの初代肝細胞の培養上清において、2-arachidonoyl-glycerol (2-AG) が有意に増加していることを見出した (2.9 倍)。そこで、2-AG の合成酵素である Diacylglycerol lipase- β (DAGL β) および分解酵素である Fatty acid amide hydrolase (FAAH) をアデノウイルスベクターを用いて肝臓に遺伝子導入した。DAGL β の肝臓への導入では、体重や褐色脂肪組織 (BAT) の UCP1 発現に有意な影響を及ぼさなかった。一方、FAAH の肝臓への導入は体重に有意な増加をもたらしたが、これは GK マウスに認められた変化と逆であり、BAT の UCP1 発現には影響を及ぼさなかった (図 2)。以上より、2-AG が GK マウスに認められた肝臓から褐色脂肪組織に至る臓器間神経ネットワークを担っている低分子である可能性は低いものと考えられた。

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)

全て査読有

1. Munakata Y, Yamada T (corresponding author), Imai J, Takahashi K, Tsukita S, Shirai Y, Kodama S, Asai Y, Sugisawa T, Chiba Y, Kaneko K, Uno K, Sawada S, Hatakeyama H, Kanzaki M, Miyazaki JI, Oka Y, Katagiri H. Olfactory receptors are expressed in pancreatic β -cells and promote glucose-stimulated insulin secretion. *Sci Rep.* 8(1):1499. 2018 doi: 10.1038/s41598-018-19765-5.

2. Yamamoto J, Imai J, Izumi T, Takahashi H, Kawana Y, Takahashi K, Kodama S, Kaneko K, Gao J, Uno K, Sawada S, Asano T, Kalinichenko VV, Susaki EA, Kanzaki M, Ueda HR, Ishigaki Y, Yamada T, Katagiri H. Neuronal signals regulate obesity induced β -cell proliferation by FoxM1 dependent mechanism. *Nat Commun.* 8(1):1930. 2017 doi: 10.1038/s41467-017-01869-7.

3. Yamada D, Koppensteiner P, Odagiri S, Eguchi M, Yamaguchi S, Yamada T, Katagiri H, Wada K, Sekiguchi M. Common Hepatic Branch of Vagus Nerve-Dependent Expression of Immediate Early Genes in the Mouse Brain by Intraportal L-Arginine: Comparison with Cholecystokinin-8. *Front Neurosci.* 11:366, 2017. doi: 10.3389/fnins.2017.00366.

4. Sakai G, Inoue I, Suzuki T, Sumita T, Inukai K, Katayama S, Awata T, Yamada T, Asano T, Katagiri H, Noda M, Shimada A, Ono

- H. Effects of the activations of three major hepatic Akt substrates on glucose metabolism in male mice. *Endocrinology*. 158(8):2659-2671. 2017 doi: 10.1210/en.2016-1969.
5. Horiuchi T, Sakata N, Narumi Y, Kimura T, Hayashi T, Nagano K, Liu K, Nishibori M, Tsukita S, Yamada T, Katagiri H, Shirakawa R, Horiuchi H. Metformin Directly Binds the Alarmin HMGB1 and Inhibits its Proinflammatory Activity. *J Biol Chem*. 292(20):8436-8446. 2017 doi: 10.1074/jbc.M116.769380.
6. Takeda E, Suzuki Y, Yamada T, Katagiri H, Sato Y. Knockout of Vasohibin-1 Gene in Mice Results in Healthy Longevity with Reduced Expression of Insulin Receptor, Insulin Receptor Substrate 1, and Insulin Receptor Substrate 2 in Their White Adipose Tissue. *J Aging Res*. 2017:9851380. 2017 doi: 10.1155/2017/9851380.
7. Kawana Y, Imai J, Sawada S, Yamada T, Katagiri H. Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibitor Improves Complications of Lipodystrophy: A Case Report. *Ann Intern Med*. 166(6):450-451. 2017 doi: 10.7326/L16-0372.
8. Asai Y, Yamada T (corresponding author), Tsukita S, Takahashi K, Maekawa M, Honma M, Ikeda M, Murakami K, Munakata Y, Shirai Y, Kodama S, Sugisawa T, Chiba Y, Kondo Y, Kaneko K, Uno K, Sawada S, Imai J, Nakamura Y, Yamaguchi H, Tanaka K, Sasano H, Mano N, Ueno Y, Shimosegawa T, Katagiri H. Activation of the hypoxia inducible factor 1 alpha subunit pathway in steatotic liver contributes to formation of cholesterol gallstones. *Gastroenterology* 152(6):1521-1535. 2017 doi: 10.1053/j.gastro.2017.01.001.
9. Suzuki T, Gao J, Ishigaki Y, Kondo K, Sawada S, Izumi T, Uno K, Kaneko K, Tsukita S, Takahashi K, Asao A, Ishii N, Imai J, Yamada T, Oyadomari S, Katagiri H. ER Stress Protein CHOP Mediates Insulin Resistance by Modulating Adipose Tissue Macrophage Polarity. *Cell Rep*. 18(8):2045-2057. 2017 doi: 10.1016/j.celrep.2017.01.076.
10. Tsukita S, Yamada T (corresponding author), Takahashi K, Munakata Y, Hosaka S, Takahashi H, Gao J, Shirai Y, Kodama S, Asai Y, Sugisawa T, Chiba Y, Kaneko K, Uno K, Sawada S, Imai J, Katagiri H. MicroRNAs 106b and 222 Improve Hyperglycemia in a Mouse Model of Insulin-Deficient Diabetes via Pancreatic β -Cell Proliferation. *EBioMedicine* 15:163-172. 2017 doi: 10.1016/j.ebiom.2016.12.002.
11. Suzuki T, Sawada S, Ishigaki Y, Tsukita S, Kodama S, Sugisawa T, Imai J, Yamada T, Yamaguchi T, Murano T, Katagiri H. Lipoprotein Lipase Deficiency (R243H) in a Type 2 Diabetes Patient with Multiple Arterial Aneurysms. *Intern Med*. 55(9):1131-6. 2016 doi: 10.2169/internalmedicine.55.5239.
12. Chiba Y, Yamada T (corresponding author), Tsukita S, Takahashi K, Munakata Y, Shirai Y, Kodama S, Asai Y, Sugisawa T, Uno K, Sawada S, Imai J, Nakamura K, Katagiri H. Dapagliflozin, a Sodium-Glucose Co-Transporter 2 Inhibitor, Acutely Reduces Energy Expenditure in BAT via Neural Signals in Mice. *PLoS One*. 11(3):e0150756. 2016 doi: 10.1371/journal.pone.0150756.
13. Sakayori N, Kikkawa T, Tokuda H, Kiryu E, Yoshizaki K, Kawashima H, Yamada T, Arai H, Kang JX, Katagiri H, Shibata H, Innis SM, Arita M, Osumi N. Maternal dietary imbalance between omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids impairs neocortical development via epoxy metabolites. *Stem Cells*. 34(2):470-82. 2015 doi: 10.1002/stem.2246.
14. Tanaka M, Imai J, Satoh M, Hashimoto T, Izumi T, Sawada S, Uno K, Hasegawa Y, Kaneko K, Yamada T, Ishigaki Y, Imai Y, Katagiri H. Impacts of the Great East Japan Earthquake on diabetic patients. *J Diabetes Investig*. 6(5):577-86. 2015 doi: 10.1111/jdi.12336.
15. Uno K, Yamada T, Ishigaki Y, Imai J, Hasegawa Y, Sawada S, Kaneko K, Ono H, Asano T, Oka Y, Katagiri H. A hepatic amino acid/mTOR/S6K-dependent signalling pathway modulates systemic lipid metabolism via neuronal signals. *Nat Commun*. 13;6:7940. 2015 doi: 10.1038/ncomms8940.
16. Noda K, Nakajima S, Godo S, Saito H, Ikeda S, Shimizu T, Enkhjargal B, Fukumoto Y, Tsukita S, Yamada T, Katagiri H, Shimokawa H. Rho-Kinase Inhibition Ameliorates Metabolic Disorders through Activation of AMPK Pathway in Mice. *PLoS One*. 9(11):e110446. 2014 doi:

10.1371/journal.pone.0110446.

17. Tanaka M, Imai J, Satoh M, Hashimoto T, Izumi T, Sawada S, Uno K, Hasegawa Y, Kaneko K, Yamada T, Ishigaki Y, Imai Y, Katagiri H. Glycemic control in diabetic patients with impaired endogenous insulin secretory capacity is vulnerable after a natural disaster: study of great East Japan earthquake. *Diabetes Care*. 37(10):e212-3. 2014 doi: 10.2337/dc14-1479.

18. Kodama S, Yamada T, Imai J, Sawada S, Takahashi K, Tsukita S, Keizo Kaneko K, Kenji Uno K, Yasushi Ishigaki Y, Yoshitomo Oka Y, Hideki Katagiri H. Simultaneous copy number losses within multiple subtelomeric regions in early-onset type2 diabetes mellitus. *PLoS One* 9(4):e88602. 2014 doi: 10.1371/journal.pone.0088602.

〔学会発表〕(計 21 件)

1. 山田哲也、片桐秀樹 microRNA による膵細胞の増殖制御 第 3 2 回 日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会 2 0 1 8

2. 山田哲也、片桐秀樹 肥満症の病態形成における肝臓からの臓器連関の役割 シンポジウム 2 (現代の高血圧の課題を踏まえたモデル動物研究による新展開) 第 5 3 回 高血圧関連疾患モデル学会学術総会 2 0 1 7

3. 浅井洋一郎、山田哲也、片桐秀樹 脂肪肝における低酸素応答は胆石形成を促進する 合併症学会シンポジウム 1 (糖尿病に合併する臓器障害の成因とその病態解析の新しい展開) 第 3 2 回日本糖尿病合併症学会 2 0 1 7

4. 山田哲也、高橋広延、宗像佑一郎、突田壮平、片桐秀樹 膵細胞老化における血管内皮の役割 シンポジウム 1 0 肥満症と老化 - サルコペニア/フレイルを含めて - 第 3 8 回日本肥満学会 2 0 1 7

5. 山田哲也、片桐秀樹 臓器連関から肥満症の病態・治療を考える 病態生理企画シンポジウム 『マルチシステムネットワークの解明が切り開く病態生理の新展開』 第 2 7 回 日本病態生理学会大会 2 0 1 7

6. 山田哲也 中枢末梢臓器連関を介した SGLT2 阻害薬によるエネルギー代謝調節機構 シンポジウム 4 4 Na⁺/グルコース共輸送体 SGLT を介した種々の生理作用と創薬の可能性 日本薬学会第 1 3 7 年会 2 0 1 7

7. 山田哲也 片桐秀樹 肥満症の病態形成における肝臓からの臓器連関の役割 シンポジウム 3PS6「多システム連携における恒常性維持とその変調による病態形成」 第 3 9 回 日本分子生物学会年会 2 0 1 6

8. 山田哲也 心血管イベントの抑制につながる 2 型糖尿病の治療 第 6 4 回 日本職業・災害医学会学術大会 2 0 1 6

9. 山田哲也 エネルギー代謝調節メカニズムの解明を肥満・糖尿病治療に役立てる (ワークショップ 3) 第 5 6 回 生命科学夏の学校 2 0 1 6

10. Tetsuya Yamada, Hideki katagiri. Role of the inter-organ neural network from the liver in systemic energy metabolism. (Joint Symposium by the Presidents of Japan Neuroscience Society and Japanese Society for Neurochemistry: Dynamic neural processes for whole body multiorgan network as a complexity system) The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society 2016

11. 山田哲也、片桐秀樹 自律神経を介して脳が統御する糖・エネルギー代謝調節機構の解明(シンポジウム 1:代謝疾患と循環制御) 第 37 回日本循環制御医学会総会 2 0 1 6

12. Tetsuya Yamada, Hideki katagiri. Role of the inter-organ network from the liver in systemic energy metabolism. (Symposium 21: Liver and Metabolic Control) The 59th Annual Meeting of the Japanese Diabetes Society 2016

13. 山田哲也、片桐秀樹 個体レベルのエネルギー代謝調節における肝臓の役割 - 臓器間神経ネットワークの観点から - (年会企画シンポジウム 4:生理機能発現における組織・臓器間ネットワークの重要性) 第 89 回日本薬理学会年会 2 0 1 6

14. 山田哲也、片桐秀樹 個体レベルのエネルギー代謝調節における肝臓の役割 - 臓器間神経ネットワークの観点から - (シンポジウム 6:中枢性血圧調節機構のパラダイムシフト) 第 38 回日本高血圧学会総会 2 0 1 5

15. Tetsuya Yamada, Hideki Katagiri, Inter-organ neural network mediate the regulation of systemic energy metabolism, The 36th Annual Meeting of Japan Society for the Study of Obesity, The 46th NIPS International Symposium (Homeostatic mechanisms among interacting organ

systems - Key to understanding obesity)、
2015

16. **山田哲也** 臓器間神経ネットワークにおける糖・エネルギー代謝調節機構の解明 (Basic Science Lecture 循環器の明日を考える)

第11回 循環器専門医を志す研修医のための卒後セミナー (日本循環器学会主催)
2015

17. **山田哲也**、片桐秀樹 体重調節における臓器連関の役割 - なぜ太りやすく痩せにくいのか - (シンポジウム12: 肥満の病態と治療戦略の最前線 - 現代人はなぜ太る? -
58回 日本糖尿病学会年次学術集会 2015

18. **山田哲也**、片桐秀樹 エネルギー代謝調節における臓器間神経ネットワーク機構の役割 (シンポジウム37: 中枢-末梢臓器連関機構を介する生体機能の制御と破綻)
第88回 日本薬理学会年会 2015

19. **山田哲也**、片桐秀樹 糖・エネルギー代謝と臓器ネットワーク (教育講演)
第49回 糖尿病学の進歩 2015

20. **山田哲也**、片桐秀樹 臓器間神経ネットワークによる糖・エネルギー代謝調節機構の解明 (シンポジウム2: 高血圧における臓器連関) 第44回 日本心臓血管作動物質学会
2015

21. **山田哲也**、片桐秀樹 エネルギー代謝における臓器間相互作用 第87回 日本内分泌学会学術総会 シンポジウム14: 自律神経調節と心血管内分泌代謝学 2014

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：

取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山田 哲也 (YAMADA TETSUYA)
東北大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：90400374

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()