

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 21 日現在

機関番号：11301

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2010～2014

課題番号：22126006

研究課題名（和文）臓器間神経ネットワークによる糖・エネルギー代謝調節の分子機構

研究課題名（英文）Molecular Mechanism of Regulating Glucose and Energy Metabolism via Inter-organ Neuronal Network System

研究代表者

片桐 秀樹 (Katagiri, Hideki)

東北大学・医学（系）研究科（研究院）・教授

研究者番号：00344664

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 77,100,000円

研究成果の概要（和文）：肝でのPPAR $\alpha$ 活性化を端緒とする基礎代謝・脂肪分解促進につながる臓器間ネットワークシステムにおいて肝でのPPAR $\alpha$ の下流分子として、FSP27を同定した。次に、肝での糖取り込み亢進を端緒とし、褐色脂肪組織での適応熱産生抑制につながる体に備わったエネルギー備蓄システムを発見し、この臓器連関についても迷走神経求心路・交換神経遠心路による神経系の関与を明らかとした。さらに、このシステムは、飽食の現代においては肥満の形成に関与し、マウスの系統間の太りやすさの違いを規定していることを発見した。以上、臓器間神経ネットワークの分子機序の解明、新たな臓器連関機構の発見とこれらの病態における意義が証明された。

研究成果の概要（英文）：We have recently discovered that neuronal networks among organs/tissues play important roles in maintaining metabolic homeostasis in the whole body. In this study, we first focused on the inter-organ neuronal network system, originated in hepatic PPAR $\alpha$  expression, which promotes energy expenditure and lipolysis, and found that FSP27 mediates this signal downstream from PPAR $\alpha$  in the liver. Next, we newly discovered another inter-organ communication system which regulates energy metabolism originating in the liver. Hepatic glucokinase expression, which induces glucose uptake, suppressed brown adipose tissue activity and adaptive thermogenesis via a novel neuronal network, consisting of the vagal afferents and sympathetic efferents. Furthermore, this neuronal network determines obesity predisposition among murine strains. Collectively, these discoveries further highlight the importance of inter-organ neuronal network for regulation of systemic homeostasis.

研究分野：医歯薬学

キーワード：糖尿病 メタボリックシンドローム 肥満

## 1. 研究開始当初の背景

ヒトをはじめとする多臓器生物においては、全身の各臓器の代謝はばらばらに独立して行われているのではなく、個体としてのエネルギー代謝恒常性維持のため、各臓器(組織)間での協調的な調節が行われていると考えられる。このためには全身の臓器間の代謝情報のやり取りが必須であると考えられ、さらにそれを統括する器官の存在が想定される。また、糖尿病や肥満症、それに合併するメタボリックシンドロームは、この精妙に調整されている臓器間相互作用が破綻した状態とも言える。

研究代表者らは、この臓器間での代謝情報のやり取りの仕組みの解明をめざし研究を進め、世界に先駆けて、自律神経系、特に求心路が、この臓器間代謝情報のやり取りに関与し、全身での代謝調節に重要な働きをしていることを示した。特に、肝臓での PPAR $\gamma$  発現増加に伴う求心性神経シグナルは、交感神経(遠心性)の活性化を生じ、基礎代謝を亢進させることを明らかとし、このシステムは、過栄養時に基礎代謝を亢進させエネルギー代謝の恒常性を保つ機構であると考えられた (Science 2006)。

これらから、個体レベルでの代謝調節に神経ネットワークを介する臓器間連関が重要な役割を果たす可能性が示唆された。しかし、これらの臓器間神経ネットワーク機構の分子機構は明らかではなく、また、我々がこの時点で解明していた臓器間神経ネットワーク機構のみですべての臓器連関が説明できるわけではない。

## 2. 研究の目的

上記の背景に記したように、研究代表者らは、個体としての糖代謝やエネルギー代謝の調節機構に求心路・遠心路双方からなる自律神経ネットワークが重要な役割を果たしていることを見出した。本研究では、本研究では、この分子機序の解明と新たな臓器連関機構の発見、および、これらの病態における意義を明らかとすることを目的として、研究を進めた。

## 3. 研究の方法

(1) 肝での PPAR $\gamma$  発現増加の際に発現が変化する遺伝子をマイクロアレイ法を用いて網羅的に解析し、PPAR $\gamma$  の下流分子の候補を検索した。

(2) (1) の実験から見いだされた候補の遺伝子や抑制変異体の遺伝子の cDNA を組み込んだ組換えアデノウイルスを作製した。

(3) (2) で作製された組換えアデノウイルスを発現させ、また、PPAR $\gamma$  と組み合わせ、個体におけるエネルギー代謝や脂肪分解などを検討し、また神経の関与の有無を切断実験や阻害剤投与実験を通して、解明した。

(4) 肝での糖取り込みを亢進させる目的で、解糖系の律速酵素であるグルコキナーゼの

cDNA を組み込んだ組換えアデノウイルスを作製した。

(5) グルコキナーゼアデノウイルスにより肝での糖取り込みを亢進させたマウスを用い、肝での代謝変化、全身における糖代謝・エネルギー代謝、これらの変化をもたらす全身各臓器での代謝変化や遺伝子発現の変化を検討した。

(6) (5) で見いだされた遠隔臓器における代謝表現型の機序の解明をめざし、神経切断や阻害剤投与を行った。

(7) この臓器間ネットワークに中枢神経がどのように関与するのかを解明するため、脳の各部位の遺伝子発現変化を検討した。

## 4. 研究成果

### 1) 肝での PPAR $\gamma$ 発現増加の下流標的分子の同定

肝での PPAR $\gamma$  発現増加の際に発現が変化する遺伝子をマイクロアレイ法を用いて網羅的に解析したところ、種々の遺伝子の発現亢進が認められた。そのなかで、脂肪蓄積に関与することが知られている FSP27 に着目し、研究を進めた。

FSP27 のアデノウイルスを作製し、肝における FSP27 の発現を亢進させると、肝 PPAR $\gamma$  発現時と同様に、基礎代謝の増加、脂肪組織における脂肪分解の亢進とそれに伴う血中遊離脂肪酸濃度の上昇、白色脂肪組織の縮小が認められ、肥満モデルマウスにおいては耐糖能の改善が認められた。さらに、血圧の上昇も観察された。

また、FSP27 の優性抑制変異体をコードしたアデノウイルスを作製し、肝に発現させたところ、PPAR $\gamma$  発現による上記表現型は抑制された。さらに、肝 FSP27 発現による遠隔臓器表現型は、PPAR $\gamma$  発現の際と同様、迷走神経肝臓枝の切断により遮断された。これらの結果から、肝での PPAR $\gamma$  発現を端緒とする個体レベルでのエネルギー代謝調節機構(ネガティブフィードバック機構)の標的分子として、FSP27 の発現・機能の亢進が明らかとなった。さらに、本解析を通じ、PPAR $\gamma$  - FSP27 経路の肝における活性化は、肥満の際の血圧上昇の機序としても重要であることが明らかとなり、メタボリックシンドロームの発症機序の解明にもつながった。

本成果は、Eur Heart J 誌に掲載され、全国紙や NHK 全国ニュースなどでも大きく報道され、注目を集めた。

### 2) 肝での糖取り込み亢進を端緒とする新規臓器間神経ネットワーク機構の発見

肝 PPAR $\gamma$  発現は過栄養時に生理的に生じており、肝での脂肪蓄積の分子機序として重要であることが知られている。肝での脂肪蓄積に関連する代謝情報が神経を通じて全身に伝えられていることを考えると、肝での炭水化物代謝情報もまた、全身に伝達されている可能性が想起された。そこで、肝での糖取

り込みを増やし解糖系を亢進・グリコーゲン合成を増加させる目的で、肝細胞における解糖系の律速酵素であるグルコキナーゼを発現させることを試みた。

グルコキナーゼのcDNAを組み込んだ組換えアデノウィルスを作製し、マウスに尾静注することにより、肝でグルコキナーゼの過剰発現を行い、肝での代謝変化のみならず、他臓器や全身における代謝状況の変動を検討した。まず、肝においては、グルコキナーゼの発現量に比例して、グリコーゲン蓄積量の増加が認められ、導入したグルコキナーゼは機能しており、かつ、生理的な範囲の中での発現であることが明らかとなった。

他臓器の解析を行ったところ、まず目についたのは、褐色脂肪組織の肥大化・白色化であった。一つ一つの褐色脂肪細胞の細胞径は大きくなり、脂肪の蓄積量が増加していた。このことから、褐色脂肪組織の熱産生臓器としての機能が障害されていることが示唆され、解析を進めた。予想通り、褐色脂肪組織におけるUCP1の発現は肝でのグルコキナーゼ発現量と負の相関を持って減少し、PGC1やD2といった熱産生関連遺伝子も同様に減少を認めた。その結果、マウス個体における適応熱産生は著明に低下した。

そこで、この肝—褐色脂肪組織の臓器連関に神経経路が関与しているかどうかを確かめるため、迷走神経肝枝の切断を行ったところ、この褐色脂肪における表現型は解除された。また、褐色脂肪組織におけるカテコラミンターンオーバーが減少し、交感神経遠心路の関与も示唆され、肝迷走神経求心路と褐色脂肪組織へ向かう交感神経遠心路の関与が示された。

さらに、脳内の各部位の検討を行ったところ、褐色脂肪組織に向かう交感神経プレモータニューロンの起始核である延髄縫線核におけるc-fosの発現が肝でのグルコキナーゼ発現により著明に抑制されていた。これは、レプチン投与によっても更新させることができず、肝からの代謝情報が脳内での神経ネットワークに影響を与え、液性因子からの情報をも含め、脳内で代謝情報の統御・調整が行われていることを明らかとしたものである。

これらの結果は、一つのマウスの系統でおこなわれたものであるが、マウスには系統間に太りやすさに違いがある。そこで、まず、高エネルギー食を与えた際のマウス肝における内因性グルコキナーゼの発現を検討したところ、太りやすい系統では、その発現亢進が大きく、太りにくい系統ではほとんど発現亢進が起こっていないことが見いだされた。そこで、太りやすい系統で肝グルコキナーゼのノックダウンを、また太りにくい系統で過剰発現を行ったところ、褐色脂肪組織でのUCP1発現の変化を伴って、太りやすさが逆転した。このことから、我々が本研究で見出した新規臓器間神経ネットワークシステ

ムは、肥満になりやすさを規定していることが明らかとなった。

炭水化物の取り込み・蓄積が増加すると熱産生が減少することから、エネルギー代謝のポジティブフィードバック機構と考えられ、餌の乏しい状況では、生存や種の保存に有利であったものと想定される。しかし、現代の飽食の時代には、このシステムは肥満へのスイッチとなるものと想定され、肥満になりやすさの個人差をも説明できる可能性が考えられる。

本成果は、Cell Metabolism 誌に掲載され、Yahoo Japan のトップページでも紹介されたのを初めとして、全国紙やテレビニュースなどでも大きく報道され、注目を集めた。

## 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 20 件)

全て査読有

1. 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-e213 2014 DOI: 10.2337/dc14-1479
2. Kodama S, Yamada T, Imai J, Sawada S, Takahashi K, Tsukita S, Kaneko K, Uno K, Ishigaki Y, Oka Y, **Katagiri H**. Simultaneous copy number losses within multiple subtelomeric regions in early-onset type 2 diabetes mellitus. PLoS One 9(4) e88602 2014 DOI: 10.1371/journal.pone.0088602
3. 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. eCollection 2014
4. Izumida Y, Yahagi N, Takeuchi Y, Nishi M, Shikama A, Takarada A, Masuda Y, Kubota M, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Iizuka Y, Itaka K, Kataoka K, Shioda S, Nijima A, Yamada T, **Katagiri H**, Nagai R, Yamada N, Kadowaki T, Shimano H. Glycogen shortage during fasting triggers liver-brain-adipose neurocircuitry to facilitate fat utilization. Nat Commun. 4:2316 2013 DOI:10.1038/ncomms3316
5. Kondo K, Ishigaki Y, Gao J, Yamada T, Imai J, Sawada S, Muto A, Oka Y, Igarashi K, **Katagiri H**. Bach1 deficiency protects

- pancreatic  $\beta$ -cells from oxidative stress injury. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 305(5) E641-E648 2013 DOI: 10.1152/ajpendo.00120.2013
6. Takahashi K, Yamada T, Tsukita S, Kaneko K, Shirai Y, Munakata Y, Ishigaki Y, Imai J, Uno K, Hasegawa Y, Sawada S, Oka Y, **Katagiri H**. Chronic mild stress alters circadian expressions of molecular clock genes in the liver. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 304(3) E301-E309 2012 DOI: 10.1152/ajpendo.00388.2012
  7. Tsukita S, Yamada T, Uno K, Takahashi K, Kaneko K, Ishigaki Y, Imai J, Hasegawa Y, Sawada S, Ishihara H, Oka Y, **Katagiri H**. Hepatic glucokinase modulates obesity predisposition by regulating BAT thermogenesis via neural signals. *Cell Metab.* 16(6) 825-832 2012 DOI: 10.1016/j.cmet.2012
  8. Saito T, Hasegawa Y, Ishigaki Y, Yamada T, Gao J, Imai J, Uno K, Kaneko K, Ogihara T, Shimosawa T, Asano T, Fujita T, Oka Y, **Katagiri H**. Importance of endothelial NF- $\kappa$ B signaling in vascular remodeling and aortic aneurysm Formation. *Cardiovascular Research.* 97(1) 106-114 2012 DOI: 10.1093/cvr/cvs298
  9. Okada S, Yokoyama M, Toko H, Tateno K, Moriya J, Shimizu I, Nojima A, Ito T, Yoshida Y, Kobayashi Y, **Katagiri H**, Minamino T, Komuro I. Brain-derived neurotrophic factor protects against cardiac dysfunction after myocardial infarction via a central nervous system-mediated pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 32(8) 1902-1909 2012 DOI: 10.1161/ATVBAHA.112.248930
  10. Hasegawa Y, Saito T, Ogihara T, Ishigaki Y, Yamada T, Imai J, Uno K, Gao J, Kaneko K, Shimosawa T, Asano T, Fujita T, Oka Y, **Katagiri H**. Blockade of the NF- $\kappa$ B Pathway in the Endothelium Prevents Insulin Resistance and Prolongs Lifespans. *Circulation.* 125 1122-1133 2012 DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.054346
  11. Toshihiro M, **Katagiri H**, Kataoka K, Fukushima A, Segawa T, Fujiwara T, Hikichi I, Takebe N, Satoh J. Recurrent hypoglycemia during pregnancies in a woman with multiple autoantibodies including anti-insulin receptor antibody and anti-platelet antibody, whose serum lowered murine blood glucose levels and phosphorylated insulin receptor of CHO-IR cells. *Endocr J* 58(12) 1037-43 2011 [https://www.jstage.jst.go.jp/article/endoerj/58/12/58\\_EJ11-0145/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/endoerj/58/12/58_EJ11-0145/_pdf)
  12. Uno K, Yamada T, Ishigaki Y, Imai J, Hasegawa Y, Gao J, Kaneko K, Matsusue K, Yamazaki T, Oka Y, **Katagiri H**. Hepatic peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ -fat-specific protein 27 pathway contributes to obesity-related hypertension via afferent vagal signals. *Eur Heart J* 33(10):1279-89 2011 DOI: 10.1093/eurheartj/ehr265
  13. Gao J, Ishigaki Y, Yamada T, Kondo K, Yamaguchi S, Imai J, Uno K, Hasegawa Y, Sawada S, Ishihara H, Oyadomari S, Mori M, Oka Y, **Katagiri H**. Involvement of Endoplasmic stress protein C/EBP homologous protein in arteriosclerosis acceleration with augmented biological stress responses. *Circulation.* 124(7) 830-839 2011 DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.014050
  14. Sugita S, Kamei Y, Akaike F, Suganami T, Kanai S, Hattori M, Manabe Y, Fujii N, Takai-Igarashi T, Tadaishi M, Oka J, Aburatani H, Yamada T, **Katagiri H**, Kakehi S, Tamura Y, Kubo H, Nishida K, Miura S, Ezaki O, Ogawa Y. Increased systemic glucose tolerance with increased muscle glucose uptake in transgenic mice overexpressing RXR $\gamma$  in skeletal muscle. *PLoS One* 6(5) e20467 2011 DOI: 10.1371/journal.pone.0020467.
  15. Nakatsu Y, Sakoda H, Kushiyama A, Zhang J, Ono H, Fujishiro M, Kikuchi T, Fukushima T, Yoneda M, Ohno H, Horike N, Kanna M, Tsuchiya Y, Kamata H, Nishimura F, Isobe T, Ogihara T, **Katagiri H**, Oka Y, Takahashi S, Kurihara H, Uchida T, Asano T. Peptidyl-prolyl cis/trans isomerase NIMA-interacting 1 associates with insulin receptor substrate-1 and enhances insulin actions and adipogenesis. *J Biol Chem.* 286(23) 20812-22 2011 DOI:10.1074/jbc.M110.206904
  16. Kudo H, Emi M, Ishigaki Y, Tsunoda U, Hinokio Y, Ishii M, Sato H, Yamada T, **Katagiri H**, Oka Y. Frequent loss of genome gap region in 4p16.3 subtelomere in early-onset type 2 diabetes mellitus. *Exp Diabetes Res* 498460 2011 <http://www.hindawi.com/journals/jdr/2011/498460/>
  17. Suzuki T, Imai J, Yamada T, Ishigaki Y, Kaneko K, Uno K, Hasegawa Y, Ishihara H, Oka Y, **Katagiri H**. Interleukin-6 Enhances Glucose-Stimulated Insulin Secretion From Pancreatic  $\beta$ -Cells: Potential Involvement of the PLC-IP3-Dependent Pathway. *Diabetes.* 60(2) 537-47 2011 DOI: 10.2337/db10-0796
  18. Onoyama I, Suzuki A, Matsumoto A, Tomita K, **Katagiri H**, Oike Y, Nakayama K, Nakayama KI. Fbxw7 regulates lipid metabolism and cell fate decisions in the

mouse liver. J Clin Invest 121(1) 342-354  
2011  
<http://www.jci.org/articles/view/40725/version/2/pdf/render>

19. Nakatsu Y, Sakoda H, Kushiyama A, Ono H, Fujishiro M, Horike N, Yoneda M, Ohno H, Tsuchiya Y, Kamata H, Tahara H, Isobe T, Nishimura F, **Katagiri H**, Oka Y, Fukushima T, Takahashi S, Kurihara H, Uchida T, Asano T. Pin1 associates with and induces translocation of CR2 to the cytosol, thereby suppressing cAMP-responsive element transcriptional activity. J Biol Chem. 285(43) 33018-33027 2010 DOI: 10.1074/jbc.M110.137836
20. 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. 285(20) 15538-15547 2010 DOI: 10.1074/jbc.M110.105841

〔学会発表〕(計 17 件)

1. **片桐秀樹** Neuronal Information Highways for Metabolic Regulation at the Whole Body Level, 第 37 回日本分子生物学会年会, 2014 年 11 月 25 日, パシフィコ横浜 (横浜市)
2. **片桐秀樹** 臓器間神経ネットワークとメタボリックシンドローム. 第 87 回日本内分泌学会学術総会, 2014 年 4 月 24-26 日, 福岡国際会議場 他 (福岡市)
3. **片桐秀樹** 臓器間神経ネットワークによる個体レベルでのエネルギー代謝制御機構, 第 86 回日本内分泌学会学術総会, 2013 年 4 月 25-27 日, 仙台国際センター (仙台市)
4. **片桐秀樹** 多臓器連関による循環・代謝のダイナミズム, 第 16 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会, 2012 年 11 月 23-24 日, 東京大学本郷キャンパス(東京都)
5. **片桐秀樹** Metabolic Information Highway ~ 個体レベルでの代謝制御機構 ~, 神経組織の成長・再生・移植研究会 第 27 回学術集会, 2012 年 10 月 27 日, 国立精神・神経医療研究センター 研究所 (東京都)
6. **片桐秀樹** 個体レベルでの代謝調節と循環 ~ 血圧から寿命の制御まで ~, 第 1 回日本肺循環学会学術集会, 2012 年 9 月 22 日, 東京ステーションコンファレンス (東京都)
7. **片桐秀樹** 動脈硬化を操る代謝シグナルネットワークの解明から治療へ The atherosclerosis puzzle: Bringing up new Metabolic pieces, 第 44 回日本動脈硬化学会総会・学術集会, 2012 年 7 月 19-20 日,

8. **片桐秀樹** ヒルトン福岡シーホーク (福岡市) 糖代謝と自律神経: 神経ネットワークの解明, 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2012 年 5 月 17-19 日, パシフィコ横浜 (横浜市)
9. **片桐秀樹** 臓器間ネットワークとメタボリックシンドローム, 第 49 回日本臨床分子医学会学術集会, 2012 年 4 月 13-14 日, みやこめっせ (京都市)
10. **片桐秀樹** 糖尿病と栄養 - 東日本大震災を乗り越えて -, 第 19 回日本健康体力栄養学会, 2012 年 3 月 10 日, 神戸学院大学 (神戸市)
11. **片桐秀樹** 全身における代謝調節と臓器間神経ネットワーク, 第 46 回糖尿病学の進歩, 2012 年 3 月 1-3 日, 岩手県民会館 他 (盛岡市)
12. **片桐秀樹** 多臓器円環のダイナミクス研究に関する学術的意義と推進上の課題, 学術シンポジウム「多臓器円環のダイナミクス」, 2011 年 10 月 8 日, 東京大学 (東京都)
13. **片桐秀樹** 臓器間神経ネットワークによる全身での代謝調節, 第 32 回日本肥満学会, 2011 年 9 月 23-24 日, 淡路夢舞台国際会議場 (淡路市)
14. **片桐秀樹** 中枢と末梢のコーディネイト, 第 31 回日本肥満学会, 2010 年 10 月 2 日, 前橋テルサ 他 (前橋市)
15. **片桐秀樹** Metabolic Harmony: 自律神経による糖・エネルギー代謝に協調的調節, 第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2010 年 5 月 28 日, ホテルグランヴィア岡山 他 (岡山市) (国際学会)
16. **Katagiri H** Neuronal Information Highways for Systemic Regulation of Glucose and Energy Metabolism, International Symposium on Development of Medical Technologies for Treating Intractable Cancers and Cardiovascular Diseases, Mar 1-2, 2013, Ito Hall, Ito International Research Center (Tokyo, Japan)
17. **Kagagiri H** Neuronal Information Highways for maintaining glucose and energy homeostasis, The 34th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society-Neuroscience Mind-, Sep 14-17, 2011, Pacifico Yokohama (Yokohama, Japan)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

片桐 秀樹 (KATAGIRI HIDEKI)

東北大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：00344664