

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：14501

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：22126011

研究課題名（和文）脂肪蓄積制御の生理と病理における遺伝子転写ネットワーク解析

研究課題名（英文）Analysis of the regulation of gene expression controlling physiological and pathological lipid accumulation

研究代表者

小川 渉（OGAWA, WATARU）

神戸大学・医学（系）研究科（研究院）・教授

研究者番号：40294219

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 75,200,000 円

研究成果の概要（和文）：肥満や過剰な脂肪の蓄積は様々な疾患の病態基盤となる。この研究では生理学的及び病理学的な脂肪蓄積の新規な制御機構の同定を目指した。肝臓の脂肪蓄積制御と脂肪肝の発症病理にStra13とSREBP1cによる転写制御経路やmTORC1/S6K1経路の重要性を明らかにした。また、脂肪細胞特異的PDK1欠損マウスの解析から、脂肪細胞の機能不全が脂肪肝やNASHの発症に関わることも明らかとした。さらに、PGC1 の新規アイソフォームの機能も解析し、骨格筋のエネルギー消費や褐色細胞の機能制御に重要な機能を担い、脂肪蓄積制御の重要なことも明らかとした。

研究成果の概要（英文）：Obesity and exaggerated lipid accumulation in organs serve as the pathological basis of various diseases. In this study, we have aimed to identify novel regulatory mechanisms for physiological and pathological lipid accumulation of various organs. We have found that the Stra13/SREBP1c transcriptional cascade as well as the mTORC1/S6K1 signaling pathway play important role in the regulation of hepatic lipid accumulation and pathogenesis of fatty liver. We also found that impaired function of adipocytes resulted in the development of fatty liver diseases and NASH. Moreover, we have found that novel isoforms of the transcriptional coactivator PGC-1 regulate the accumulation of lipid through the control of the function of brown adipose tissue.

研究分野：代謝学

キーワード：肥満 異所性脂肪蓄積

1. 研究開始当初の背景

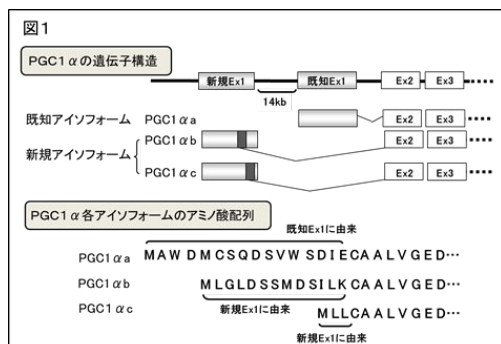
脂肪組織は生体における最大のエネルギー貯蔵の場であるとともに、アディポカインの産生や肥満における慢性炎症の主要な場としても生体のエネルギー代謝制御に重要な役割を担っている。肥満は脂肪蓄積が増大した状態と定義されるが、肥満は様々な代謝異常を引きおこし、多くの疾患の病態基盤となる。また、肥満では脂肪細胞における脂肪蓄積が増大するだけでなく、骨格筋や肝臓といった脂肪組織以外での脂肪の蓄積、いわゆる異所性脂肪蓄積が生じる。このような異所性脂肪蓄積も多くの代謝異常症の発症に関わると考えられている。肥満や肥満関連疾患のより深い病態の理解や新規な治療法の開発のためには、このような脂肪蓄積の制御機構の詳細を明らかにすることが重要と考えられる。

2. 研究の目的

脂肪組織への脂肪蓄積あるいは、異所性脂肪の蓄積は脂肪の合成分解、エネルギーの消費制御など全身の様々なシステムによって影響を受ける。本研究では脂肪蓄積制御の分子メカニズムを、主に遺伝子発現制御や様々なシグナル伝達経路の解析を通じて明らかにすることを目的とした。

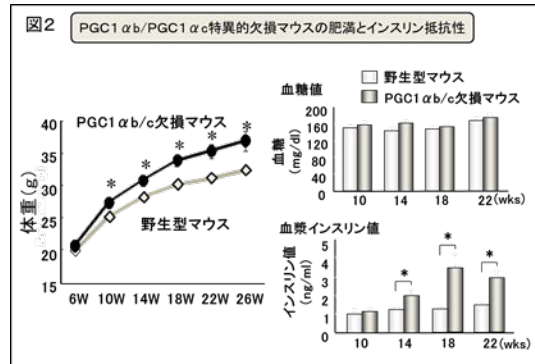
3. 研究の方法

代表者が今まで解析を進めてきたインスリンシグナルと脂肪蓄積制御機構との関連について臓器特異的インスリンシグナル抑制マウスや様々な遺伝子改変マウスを用いて検討する。また代表者がインスリンによって発現や活性が制御されることを明らかにしてきた転写因である Stra13 や KLF15 の細胞レベル、個体レベルでの機能解析を通じて、肝臓や骨格筋における異所性脂肪蓄積制御に関わる新たな経路やメカニズムの同定を目指す。また、代表者らはエネルギー消費制御やミトコンドリア機能制御に重要な機能を果たすとされる転写コアクチベーター PGC-1 の新規なアイソフォーム (PGC-1 b 及び PGC-1 c) を同定している (図 1)。



この新規アイソフォームを特異的に欠損したマウスは、エネルギー消費の低下によって肥満やインスリン抵抗性を呈することも既に明らかとしている (図 2)。そこで、PGC-1

b 及び PGC-1 c の発現制御機構や生理的機能を、主に脂肪蓄積制御の観点から解析するとともに、肥満の病態形成への関わりについても検討する。



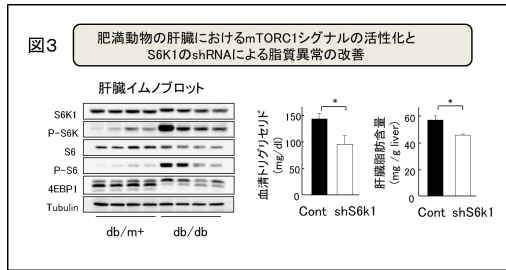
4. 研究成果

肝臓における脂肪合成と脂肪蓄積には転写因子 SREBP1c が重要な機能を果たすことが知られている。インスリンは SREBP1c の発現を誘導するが、そのメカニズムは明らかではなかった。インスリンは転写因子 Stra13 の発現を誘導することは知られていたが、Stra13 の強制発現は SREBP1c の発現を誘導し、shRNA による Stra13 のノックダウンによりインスリンによる SREBP1c の発現は抑制されることが明らかとなった。このことから、Stra13 は SREBP1c の発現制御因子であることが明らかとなった。また Stra13 による SREBP1c の発現誘導には SREBP1c 遺伝子の第一イントロンへの作用が重要な役割を担うことも明らかとなった。肥満インスリン抵抗性モデル動物の肝臓では Stra13 の発現が増強しており、shRNA の導入により、その発現を抑制すると脂肪肝の改善がみられた。以上の結果から、Stra13 は脂肪肝の発症病理にも関与すると考えられた。

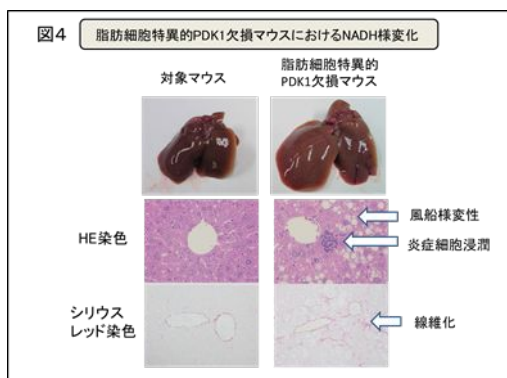
また、SREBP1c の個体レベルでの発現誘導機構を解析し、インスリン/Stra13 を介した経路だけでなく、アミノ酸を始めとした栄養シグナルによって惹起される mTORC1 シグナル伝達経路が重要な役割を担うことを明らかとした。shRNA によるノックダウン実験の結果から、mTORC1 シグナル伝達経路の下流では蛋白キナーゼ S6K1 が SREBP1c の発現誘導に重要な役割を担うことを明らかとした。また、肥満インスリン抵抗性モデル動物の肝臓で S6K1 をノックダウンすると血清中性脂肪値の低下と脂肪肝の改善が生じることも見出し、肥満インスリン抵抗性動物における S6K1 の過剰な活性化も脂肪肝の病態形成に重要な役割を担うことも明らかとした (図 3)。

脂肪細胞特異的にインスリンシグナルの要となる分子である蛋白キナーゼ PDK1 を欠損するマウスを作成したところ、このマウスは全身のインスリン抵抗性と高血糖、高トリグリセリド血症、高コレステロール血症などの代謝異常症を呈した。さらに、このマウスは通常食飼育下において、10 週令から著明な脂

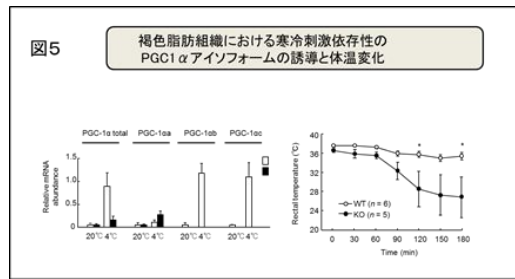
脂肪肝を呈し、35週令までに肝細胞の風船様変



性、間質の炎症細胞浸潤、血管周囲の線維化といった NASH に特徴的な肝臓の病理変化を示すことが明らかとなった (図 4)。脂肪組織量の変化や炎症性サイトカイン、アディポカインの分泌異常といった脂肪と肝臓の間の臓器相関に関わることが知られている既知の要因は、本マウスの脂肪肝や NASH の発症には関与しないことも明らかとなった。すなわち、肝臓の脂肪蓄積を制御する何らかの未知の要因が脂肪細胞に存在し、この未知の要因は PDK1 経路によって制御されることが明らかとなった。脂肪肝や NASH の発症病理にはインスリン抵抗性が関与すると考えられているが、その本質は十分に明らかではない。代表者の研究成果は脂肪細胞のインスリン作用障害が、インスリン抵抗性と NASH を結ぶメカニズムに関与することを示唆しており、今後そのようなメカニズムについての更なる検討が、新規な NASH 治療薬の開発に繋がる可能性があると考えられる。



また、PGC1 の新規アイソフォーム PGC-1 b/PGC-1 c は、褐色脂肪組織に強く発現しており、寒冷刺激に暴露するとその発現が顕著に増大することが明らかとなった。PGC-1 b/PGC-1 c 特異的欠損マウスでは、褐色脂肪組織における UCP1 の発現が低下し、体温も急速に低下することが明らかとなった。すなわち、PGC-1 b/PGC-1 c は褐色脂肪組織での熱産生と体温の維持に重要な機能を担うと考えられた(図 5)。褐色脂肪細胞における熱消費の制御は肥満の病態とも深く関わると考えられている。PGC-1 b/PGC-1 c の誘導薬は、この面からも抗肥満薬への臨床応用に繋がる可能性がある。



PGC1 の新規アイソフォーム PGC-1 b/PGC-1 c が運動時に特異的に誘導される機構も検討した。運動負荷前にあらかじめアドレナリン拮抗薬を投与したマウスでは PGC-1 b/PGC-1 c の発現が抑制され、アドレナリン刺激薬の投与では運動時と同様に PGC-1 b/PGC-1 c が特異的に誘導された。既知のアイソフォームである PGC-1 a 及び PGC-1 b/PGC-1 c のプロモーター解析を行った結果、前者には 1 個の、後者には 2 個の cAMP-responsive element (CRE) が存在することが明らかとなった。PGC-1 a の CRE に変異を導入してもプロモーター活性には影響はなかったが、PGC-1 b/PGC-1 c の CRE への変異導入によってプロモーター活性は顕著に障害された。以上の結果から、PGC-1 b/PGC-1 c の発現誘導の特異性は運動時のアドレナリンシグナルに対する反応性によって決定されていることが明らかとなった。PGC-1 b/PGC-1 c の肥満の病態形成における意義についても検討し、高脂肪食飼育マウスや遺伝的肥満モデルマウスでは骨格筋における PGC-1 b/PGC-1 c のアドレナリン刺激による誘導性が減弱していることが明らかとなった。このようなアドレナリンに対する反応減弱は、受容体レベルまた受容体以後のシグナル伝達レベルな、様々なレベルで生じていることも明らかとなった。

PGC-1 b/PGC-1 c の骨格筋エネルギー代謝における下流の分子機構を検討するため、骨格筋で PGC-1 b/PGC-1 c で誘導される遺伝子を検討し、転写因子 KLF15 を同定した。KLF15 は野生型マウスの骨格筋では運動により発現が増加し、PGC-1 b/PGC-1 c 遺伝子欠損マウスの骨格筋ではその発現が抑制されていた。また加齢や糖尿病等でも骨格筋の KLF15 の発現変動がみられ様々な病態への関与が示唆された。KLF15 の代謝制御への生理的機能を明らかとするため、KLF15 flox マウスも作成した。

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 8 件)

Uchimura K, Hayata M, Mizumoto T, Miyasato Y, Kakizoe Y, Morinaga J, Onoue T, Yamazoe R, Ueda M, Adachi M, Miyoshi T, Shiraishi N, Ogawa W, Fukuda K, Kondo

T, Matsumura T, Araki E, Tomita K, Kitamura K. The serine protease prostaticin regulates hepatic insulin sensitivity by modulating TLR4 signalling. *Nat Commun*. 査読有 5, 2014, 3428.

Kubota H, Noguchi R, Toyoshima Y, Ozaki Y, Uda S, Watanabe K, Ogawa W, Kuroda S. Temporal coding of insulin action through multiplexing of the AKT pathway. *Mol Cell*. 査読有 46, 2012, 820-832

Takenaka N, Izawa R, Wu J, Kitagawa K, Nihata Y, Hosooka T, Noguchi T, Ogawa W, Aiba A, Satoh T. A critical role of the small GTPase Rac1 in Akt2-mediated GLUT4 translocation in mouse skeletal muscle. *FEBS J*. 査読有 281, 2014, 1493-504

Kikani CK, Verona EV, Ryu J, Shen Y, Ye Q, Zheng L, Qian Z, Sakaue H, Nakamura K, Du J, Ji Q, Ogawa W, Sun LZ, Dong LQ, Liu F. Proliferative and antiapoptotic signaling stimulated by nuclear-localized PDK1 results in oncogenesis. *Sci Signal*. 査読有 5, 2012, ra80

Tawaramoto K, Kotani K, Hashiramoto M, Kanda Y, Nagare T, Sakaue H, Ogawa W, Emoto N, Yanagisawa M, Noda T, Kasuga M, Kaku K. Ablation of 3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1 (PDK1) in vascular endothelial cells enhances insulin sensitivity by reducing visceral fat and suppressing angiogenesis. *Mol Endocrinol*. 査読有 26, 2011, 95-109, Li S, Ogawa W, Emi A, Hayashi K, Senga Y, Nomura K, Hara K, Yu D, Kasuga M. Role of S6K1 in regulation of SREBP1c expression in the liver. *Biochem Biophys Res Commun*. 査読有 412, 2011, 197-202

Deng L, Shoji I, Ogawa W, Kaneda S, Soga T, Jiang DP, Ide YH, Hotta H. Hepatitis C virus infection promotes hepatic gluconeogenesis through an NS5A-mediated, FoxO1-dependent pathway. *J Virol*. 査読有 85, 2011, 8556-8568

Cao Y, Nakata M, Okamoto S, Takano E, Yada T, Minokoshi Y, Hirata Y, Nakajima K, Iskandar K, Hayashi Y, Ogawa W, Barsh GS, Hosoda H, Kangawa K, Itoh H, Noda T, Kasuga M, Nakae J. PDK1-Foxo1 in agouti-related peptide neurons regulates energy homeostasis by modulating food intake and energy expenditure. *PLoS One*. 査読有 6, 2011, e18324

[学会発表](計 16 件)

細岡哲也、松木核、野村和弘、松井翔、佐々木努、北村忠弘、江口潤、Evan D. Rosen、中江潤 Domenico Accili、春日雅人、小川涉。代謝異常症及び NASH の病態における脂肪細胞の機能不全の意義と分

子機構の解明。第 88 回日本内分泌学会学術総会。2015 年 4 月 23-25 日、東京

細岡哲也、松木核、野村和弘、松井翔、佐々木努、北村忠弘、江口潤 Evan D. Rosen、中江潤 Domenico Accili、春日雅人、小川涉。インスリン抵抗性・糖代謝異常の病態における脂肪細胞 PDK1-FoxO1 経路の意義の解明。第 58 回日本糖尿病学会年次学術集会。2015 年 5 月 20 日-24 日、下関

野村和弘、小川涉。PGC1 の機能解析を通じた代謝改善機構の解析。第 35 回日本肥満学会、2014 年 10 月 24-25 日、宮崎

野村和弘、水崎奈央、細岡哲也、佐々木努、北村忠弘、阪上浩、春日雅人、小川涉。骨格筋のアドレナリン抵抗性は PGC1 の誘導不全により肥満を惹起する。第 57 回日本糖尿病学会学術集会、2014 年 5 月 22-24 日、大阪

水崎奈央、野村和弘、細岡哲也、春日雅人、小川涉。PGC1 各種アイソフォームの発現パターンと機能の解析。第 57 回日本糖尿病学会学術集会、2014 年 5 月 22-24 日、大阪

野村和弘、水崎奈央、細岡哲也、佐々木努、北村忠弘、阪上浩、春日雅人、小川涉。骨格筋のアドレナリン抵抗性は PGC1 の誘導不全により肥満を惹起する。第 87 回日本内分泌学会学術総会、2014 年 4 月 24-26 日、福岡

小川涉、野村和弘、細岡哲也。PGC1 による骨格筋とエネルギー制御のメカニズム。第 87 回日本内分泌学会学術総会、2014 年 4 月 24-26 日、福岡

Ogawa W. Novel Variants of PGC-1 and Muscle Energy Efficiency. 2014 Keystone Symposia allenges and Opportunity in Diabetes Research and Treatment. 2011 年 1 月 12-16 日、Canada

水崎奈央、野村和弘、細岡哲也、春日雅人、小川涉。PGC1 の各種アイソフォームの発現と機能の解析の役割、第 34 回日本肥満学会、2013 年 10 月 11-12 日、東京

野村和弘、水崎奈央、細岡哲也、佐々木努、北村忠弘、阪上浩、春日雅人、小川涉。肥満病態形成における PGC1 新規アイソフォームの役割、第 34 回日本肥満学会 2013 年 10 月 11-12 日、東京

小川涉。PGC1 の各種アイソフォームの発現と機能の解析の役割、第 13 回日本抗加齢医学会、2013 年 6 月 28-30 日、横浜

野村和弘、水崎奈央、細岡哲也、佐々木努、北村忠弘、阪上浩、春日雅人、小川涉。肥満病態形成における PGC1 新規アイソフォームの役割、第 86 回日本内分泌学会学術総会、2013 年 4 月 25-27 日、仙台

野村和弘、細岡哲也、佐々木努、北村忠弘、阪上浩、春日雅人、小川涉。PGC1 アイ

ソフォームの肥満病態形成における意義.
第33回日本肥満学会.2012年10月11-12
日、京都

Ogawa W. Role of novel isoform of
PGC-1 in the regulation of energy
metabolism, 2012 APDO symposium, 2012
年4月20-21日, Seoul, Korea

野村和弘, 細岡哲也, 佐々木努, 北村忠
弘, 清野進, 春日雅人, 小川渉. 転写コ
アクチベーターPGC1 の新規アイソフ
ォーム PGC1 b/c は運動時のエネルギー消
費を調節する. 第33回日本肥満学
会.2011年9月23-24日、淡路

野村和弘, 細岡哲也, 千賀陽子, 林久美
子, 春日雅人, 小川渉. 転写コアクチベ
ーターPGC1 の新規アイソフォーム PGC1
b/cの機能解析. 第54回日本糖尿病学
会年次学術集会 2011年5月19-21日, 札
幌

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

該当なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

小川 渉 (OGAWA, Wataru)

神戸大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：40294219

(2)研究分担者

該当なし

(3)連携研究者

野村和弘 (NOMURA, Kazuhiro)

神戸大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：70450236