

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 16 日現在

機関番号：84404

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2015～2016

課題番号：15H06915

研究課題名(和文) C型ナトリウム利尿ペプチド(CNP)のエネルギー代謝における新たな役割

研究課題名(英文) A novel role of C-type natriuretic peptide (CNP) in energy expenditure.

研究代表者

ベ チョロン (Bae, Cho-Rong)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・流動研究員

研究者番号：80760793

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：C型ナトリウム利尿ペプチド(CNP)は、血管壁から主に分泌される局所因子である。特に炎症や線維化等に対する保護作用が知られているが、慢性炎症の一つである肥満における作用は不明であった。一方、肥満において中心的な役割を担う脂肪組織においては、CNP受容体が豊富に存在しているが、CNPの機能や肥満における病態生理学的役割は知られていない。本研究では、脂肪組織特異的にCNPが過剰発現するマウスが肥満において、抗炎症、インスリン感受性の改善作用、白色脂肪組織のBeige化作用を有することを明らかにし、CNPの肥満及びそれに関連疾患に対する治療標的としての可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：OBJECTIVE: C-type natriuretic peptide (CNP) is expressed in diverse tissues, including adipose, and exerts its effects by binding to and activating its receptor, guanylyl cyclase B (GCB). However, the function of CNP in adipose tissue during high-fat diet (HFD)-induced obesity is unclear. METHODS: To determine the role of CNP in obesity, we generated transgenic (Tg) mice that overexpressed CNP specifically in adipose tissue (CNP Tg). RESULTS: CNP Tg mice showed decreased fat weight due to changes in lipid metabolism, including increased lipolysis, and an increase in energy expenditure by beige adipocytes in WAT during HFD-induced obesity. This response led to reduced inflammation. In addition, Ad-CNP Tg mice showed improved glucose tolerance and insulin resistance. CONCLUSION: Our results suggest that CNP protects against inflammation and insulin resistance, and increases energy expenditure during HFD-induced obesity in mice.

研究分野：代謝学

キーワード：CNP エネルギー代謝 肥満 炎症 インスリン感受性 脂肪細胞 ペプチド 過剰発現マウス

1. 研究開始当初の背景

C型ナトリウム利尿ペプチド(CNP)は、申請者の所属施設の研究所長(現研究所担当理事)寒川賢治博士らにより、ブタ脳組織より、単離・同定された生理活性ペプチドであり、現在、広く臨床応用されている心房性ナトリウム利尿ペプチド(ANP)や脳性ナトリウム利尿ペプチド(BNP)と共に、ナトリウム利尿ペプチドファミリーを形成している(文献1)。

CNPは、脳組織に多く存在していることから、主に神経ペプチドとして作用している。それらの作用は、特異的受容体である guanylyl cyclase-B (GC-B)を介し、細胞内のcGMPをセカンドメッセンジャーとして引き起こされている。また、末梢組織においては、CNPの存在量は少ないものの、受容体GC-Bが様々な組織に存在しており、局所因子として、血管組織や骨組織での作用が知られている。特に最近、局所因子としてCNPの機能が注目され、例えば、心臓、肺、腎臓組織におけるCNPの線維化抑制や抗炎症作用等が報告されている(文献2-5)。

一方、脂質、エネルギー代謝においては、ANP、BNPのGC-A/cGMP系による、エネルギー代謝改善作用、抗肥満作用、脂肪分解促進作用等が報告されていることから(文献6-8)、本課題にて着目しているCNP/GC-B/cGMP系においても同様の作用が予想される。実際に、「CNPとエネルギー代謝」に関する研究報告はあるが、ほとんどが中枢性のCNPの作用に重点がおかれ、末梢組織での作用は、未だ不明な点が多い(文献9,10)。

申請者は、大学院時代に「栄養学的視点からの肥満及び糖尿病の分子メカニズム解明研究」をテーマとし研究に携わり、食品の種類や食物の性状が脂質、エネルギー代謝にどのように影響しているかを検証した(文献11-18)。更に、「生理活性ペプチド、

グアニリンとその受容体GC-Cの抗肥満作用解明」研究にも携わり、脂肪組織におけるGC-C/cGMP系による肥満抵抗性の分子メカニズムおよび炎症性サイトカイン産生との関連性を明らかにした。それを機に「ペプチド性因子とcGMP系によるエネルギー代謝調節」に焦点をあて研究を継続している。その過程にて、申請者は、CNP/GC-B/cGMP系に注目し、CNP受容体GC-Bが脂肪組織中の脂肪細胞に発現していることや、CNPの脂肪組織における発現量が、肥満において増加していることを見出した。以上のことから、申請者は、CNPの脂肪組織における新たな機能に着目し、「CNPのエネルギー代謝における役割」というテーマを考案した。

2. 研究の目的

C型ナトリウム利尿ペプチド(CNP)の脂肪組織における新しい機能に着目し、CNPの脂質、エネルギー代謝における作用とその作用機序を解明する。

3. 研究の方法

脂肪組織特異的CNP過剰発現マウス(アディポネクチンプロモーター、adipo-CNP-Tg)を用いて、脂肪組織由来のCNPのエネルギー代謝における作用を検討する。肥満病態は、高脂肪食性肥満をモデルとして用いる。

4. 研究成果

(1) 脂肪組織特異的CNP-Tgの作製

CNP-Tgは、予想通りに、各種の脂肪組織(精巣周囲脂肪、腸間膜脂肪、皮下脂肪、褐色脂肪)において、CNPが遺伝子レベル、ペプチドレベル共に増加していた。

<結果2~5:高脂肪食性肥満におけるCNP-Tgの作用 野生型との比較 >

(2) CNP-Tgにおける脂肪組織重量の減少及び脂質分解酵素系の抑制

CNP-Tgでは、脂肪組織(腸間膜脂肪、

精巣周囲脂肪、皮下脂肪)重量と脂肪細胞サイズが減少していた。腸間膜脂肪組織やそこから分離した成熟脂肪細胞において、脂質分解系の因子(ATGL, HSL, PGC1 α , PPAR α , CPT1)の発現量が低下しており、その要因と考えられた。なお、精巣周囲脂肪組織では上記因子の発現量変化は認められなかった。また、CNPの骨伸長作用のため、CNP-Tgでは体長のわずかな増加のため、体重の変動は無かった。

(3)CNP-Tgの抗炎症作用 腸間膜脂肪組織と血中

CNP-Tgでは、腸間膜脂肪組織、そこから分離した成熟脂肪細胞及び血中において炎症性マーカー量(TNF α , IL-6, MCP-1)が抑制され、脂肪組織中のマクロファージの数も減少し、肥満に起因する炎症作用が抑制されていた。

(4)CNP-Tgのインスリン抵抗性の改善作用

CNP-Tgでは、GTT, ITTにおいて血糖値が低下し、インスリン投与によるAktのリン酸化が亢進しており、肥満によるグルコース代謝増悪の改善効果を示した。また、膵臓の β -細胞の肥大化も抑制されていた。

(5)CNP-Tgのベージュ細胞によるエネルギー消費亢進作用

CNP-Tgでは、酸素消費量が増加していることや皮下脂肪組織での褐色脂肪マーカー(UCP1, PRDM16等)発現量が上昇していることより、白色脂肪組織の褐色化(ベージュ細胞化)によるエネルギー消費亢進作用が示された。褐色脂肪組織中のマーカーに変動は無かった。

【考察】

CNPの新たな作用として、肥満病態における抗炎症、耐糖能改善、ベージュ細胞によるエネルギー消費亢進作用を明らかにした。

<引用文献(除自著)>

1. Sudoh T, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H, C-type natriuretic peptide (CNP): a new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain. *Biochem Biophys Res Commun*, **168**, 863-870, 1990
2. Kimura T, et al, Protective effects of C-type natriuretic peptide on cisplatin-induced nephrotoxicity in Mice. *Cancer Chemother Pharmacol*, **75** (15), 1057-1063, 2015
3. Moyes AJ, et al, Endothelial C-type natriuretic peptide maintains vascular homeostasis. *J Clin Invest*, **124**, 4039-4051, 2014
4. Soeki T, et al, C-type natriuretic peptide, a novel antifibrotic and antihypertrophic agent, prevents cardiac remodeling after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*, **45**, 608-616, 2005
5. Itoh T, et al, C-type natriuretic peptide ameliorates monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Am J Respir Crit Care Med*, **170**, 1204-1211, 2004
6. Mitschke MM, et al, Increased cGMP promotes healthy expansion and browning of white adipose tissue. *FASEB J*, **27**, 1621-1630, 2013
7. Bordicchia M, et al, Cardiac natriuretic peptides act via p38 MAPK to induce the brown fat thermogenic program in mouse and human adipocytes. *J Clin Invest*, **122**, 1022-1036, 2012
8. Miyashita K, et al, Natriuretic peptides/cGMP/cGMP-dependent protein kinase cascades promote muscle mitochondrial biogenesis and prevent obesity. *Diabetes*, **58**, 2880-2892, 2009
9. Yamada-Goto N, et al, Intracerebroventricular administration of C-type natriuretic peptide suppresses food intake via activation of the melanocortin system in mice.

Diabetes, 2,1500-1504, 2013

10. Inuzuka M, et al, C-type natriuretic peptide as a new regulator of food intake and energy expenditure. Endocrinology, **151**, 3633-3642, 2010

<引用文献(自著)>

11. Hasegawa K, Akieda-Asai S, Fujii Y, Bae C.R., Yasuda M, Date Y.

Guanylin-Guanylyl Cyclase-C signaling in macrophages regulates mesenteric fat inflammation induced by high-fat diet. Endocrine Journal 62(10): 939-947, 2015

12. Bae, C.R., Hasegawa, K., Akieda-Asai, S., Kawasaki, Y., Senba, K., Cha, Y.S., Date, Y.

Possible involvement of food texture in insulin resistance and energy metabolism in male rats. Journal of Endocrinology 222(1): 61-72, 2014

13. Bae, C.R., Hasegawa, K., Akieda-Asai, S., Kawasaki, Y., Cha, Y.S., Date, Y.

The short-term effects of soft pellets on lipogenesis and insulin sensitivity in rats. Preventive Nutrition and Food Science 19(3): 164-169, 2014

14. Bae, C.R., Park, Y.K., Cha, Y.S.

Quercetin-rich onion peel extract suppresses adipogenesis by down-regulating adipogenic transcription factors and gene expression in 3T3-L1 adipocytes. Journal of Science of Food and Agriculture 94(13): 2655-2660, 2014

15. Bae, C.R., Kwon, D.Y., Cha, Y.S.

Anti-obesity effects of traditional and standardized meju in high-fat diet-induced obese C57BL/6J mice. Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition 54(1): 45-50, 2014

16. Bae, C.R., Kwon, D. Y., Cha, Y.S.

Anti-obesity effects of salted and unsalted doenjang supplementation in

C57BL/6J mice fed with high fat diet.

Journal of Food Science and Nutrition 42(7): 1036-1042, 2013

17. Poleni, P.E., Akieda-Asai, S., Koda, S., Sakurai, M., Bae, C.R., Senba, K., Cha, Y.S., Furuya M., Date Y.

Possible involvement of melanocortin-4-receptor and AMP-activated protein kinase in the interaction of glucagon-like peptide-1 and leptin on feeding in rats. Biochemical and Biophysical Research Communications 420(1): 36-41, 2012

18. Kim, J.L., Bae, C.R., Cha, Y.S.

Helianthus tuberosus extract has Anti-diabetes effects in HIT-T15 cells. Journal of Food Science and Nutrition 39(1): 31-35, 2010

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 0件)

[学会発表](計 1件)

1. 第90回日本内分泌学会学術総会、2017年4月、京都
「C型ナトリウム利尿ペプチド(CNP)の高脂肪食性肥満における作用 脂肪細胞及び血管内皮細胞特異的過剰発現マウスを用いた検討」

6. 研究組織

(1)研究代表者

ベ チョロン (Bae, Cho-Rong)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・生化学部・流動研究員

研究者番号：80760793