

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09376

研究課題名(和文) CXCL12-CXCR4経路を介した新規褐色脂肪活性化メカニズムの解明

研究課題名(英文) New activation mechanism of brown adipocyte through CXCL12-CXCR4 pathway

研究代表者

石川 耕 (Ishikawa, Ko)

千葉大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80456087

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：褐色脂肪細胞は、ブドウ糖や脂肪酸をエネルギー基質として非ふるえ熱産生をする臓器である。本研究で我々は、CXCL12-CXCR4が新規の褐色脂肪細胞活性化因子の一つであることを明らかにした。褐色脂肪細胞特異的にCXCR4を欠損したマウスにおいて、高脂肪餌を与えると糖代謝を悪化させた。また、褐色脂肪培養細胞に対してCXCL12を添加すると、褐色脂肪細胞活性化マーカーであるUCP-1とPGC-1aが有意に増加し、脂肪合成関連と脂肪酸取り込み遺伝子の増加を認めた。以上のことより、CXCL12-CXCR4経路は、褐色脂肪活性化に関与し生体内では糖代謝に影響を与える可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Brown adipocytes are organs that produce non-tremor thermogenesis using glucose or fatty acids as energy substrates. In this study, we clarified that CXCL12-CXCR4 is one of new brown adipocyte activating factors. Mice lacking CXCR4 specifically in brown adipocytes, exacerbated glucose metabolism when given a high fat diet. In addition, addition of CXCL12 to brown adipose-cultured cells significantly increased UCP-1 and PGC-1a which are brown adipocyte activation markers, and fat saturation-related and increased fatty acid uptake genes were observed. Based on the above, the CXCL12-CXCR4 pathway is involved in brown adipose activation and may affect glucose metabolism in vivo.

研究分野：代謝内分泌

キーワード：褐色脂肪細胞 糖代謝

1. 研究開始当初の背景

ケモカイン CXCL12 (SDF-1) は、G 蛋白質共役受容体 CXCR4 と結合し、生体内で多様な作用を担っている。発生段階において、心血管系、神経系、生殖腺の形成に重要である。したがって、全身 CXCR4 欠損マウスは心奇形あるいは中枢神経欠損により生下後死亡する。

また、生下後も CXCL12-CXCR4 経路は、多様な役割を持っている。細胞の増殖、接着、抗アポトーシス、リンパ球の誘導に関与し、新生血管の形成、悪性腫瘍の増殖、転移を促進することが報告されている。

白色脂肪細胞にも CXCR4 が発現しており、その役割は、脂肪組織における血管形成に関与することが報告された。

脂肪滴を蓄積する細胞は白色脂肪以外に褐色脂肪細胞が知られている。褐色脂肪細胞は生体内で白色脂肪細胞の機能とは異なり、非ふるえ熱産生を行い、体温を維持している。熱産生を行う際に、血中の脂肪酸あるいはグルコースをエネルギー基質として利用するため、基礎代謝量が増加すると共に、体重減少、血中ブドウ糖減少、血中脂肪酸減少の作用を持つ。

褐色脂肪細胞にも CXCR4 が発現していることが知られているが、褐色脂肪細胞における CXCL12-CXCR4 の機能について、不明である。そこで、我々は褐色脂肪細胞におけるこのシグナルパスウェイの機能を検討した。

2. 研究の目的

褐色脂肪細胞の機能は、血中ブドウ糖あるいは血中脂肪酸を消費することにより、非ふるえ熱産生を行い、基礎代謝を上昇させること

から、CXCL12-CXCR4 パスウェイがこれらの機能に関与しているのではないかと仮説を立てた。よって、本研究の目的は、

- (1) 生体内において CXCL12-CXCR4 が糖代謝に対する役割を明らかにする。
- (2) CXCL12-CXCR4 が褐色脂肪細胞活性化に対する影響を明らかにする。

3. 研究の方法

遺伝的に褐色脂肪細胞特異的に CXCR4 が欠損したマウスを創出し、通常餌と高脂肪餌によって飼育する。高脂肪餌は、4週間と25週間の短期的、長期的な体重と摂餌量の変化を検討した。4週間と25週間の高脂肪餌およびそれに該当する通常餌を用いて、それぞれ野生型マウスと遺伝子改変マウスにおいて、インスリン負荷試験とブドウ糖負荷試験を行い、インスリン抵抗性の評価と糖代謝の評価を行った。

マウスの褐色脂肪組織から褐色脂肪初代培養細胞を作成し、SV40 ウイルスを用いて不死化褐色脂肪培養細胞を作成した。この培養細胞を用いて、リコンビナント CXCL12 を 20, 100nM 添加し、褐色脂肪活性化マーカーである UCP-1 遺伝子と UCP-1 蛋白をそれぞれリアルタイム PCR 法とウエスタンブロッティング法を用いて、定量し比較検討した。さらに、活性化関連遺伝子である PGC-1 α 、脂肪酸合成関連、脂肪酸取り込みに関与する CD36 を定量化、比較検討を行った。

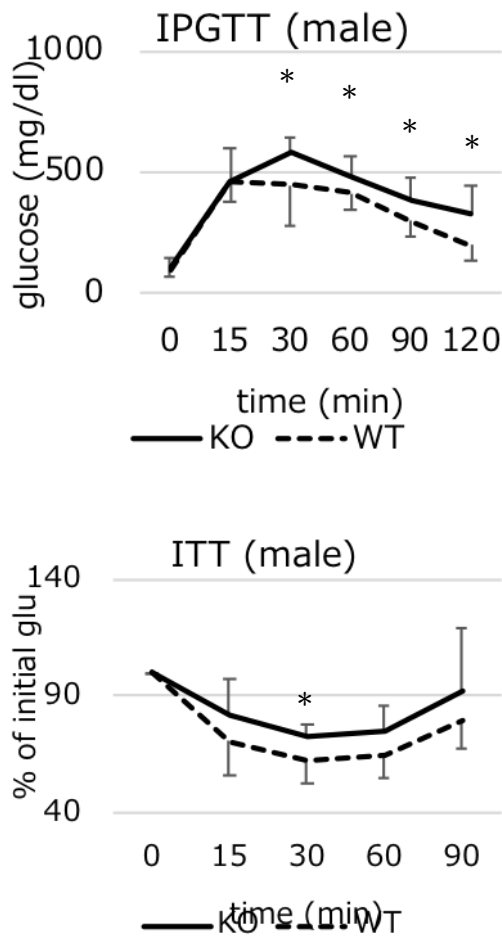
4. 研究成果

(1) マウスにおける CXCR4 の糖代謝に対する影響
用いたマウスの体重変化や摂餌量の変化は、

野生型マウスと遺伝子改変マウス間での差は認められなかった。通常餌投与のマウスにおいて、ブドウ糖負荷試験、インスリン負荷試験について有意差はなかった。しかしながら、高脂肪食を投与したマウスにおいて、4週負荷後にブドウ糖負荷試験とインスリン負荷試験を行うと褐色脂肪細胞特異的にCXCR4を欠損したマウスにおいて、有意に糖代謝が悪化していた(図1)。

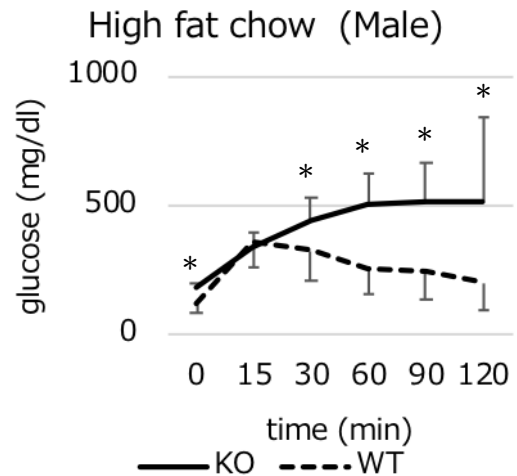
また、25週間の高脂肪食投与後のブドウ糖負荷試験では図2のように空腹時およびブドウ糖等負荷後の血糖値がノックアウトマウスにおいて有意に上昇していた。

図1



さらに、この時の血中インスリンを検討したところ、ノックアウトマウスにおいて空腹時インスリン濃度が上昇していた。

図2



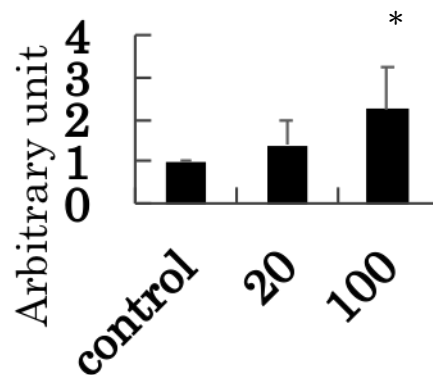
(2) 褐色脂肪細胞におけるCXCL12の影響

不死化した褐色脂肪培養細胞にリコンビナントCXCL12を添加し、褐色脂肪細胞活性化の指標であるUCP-1遺伝子発現、および蛋白発現を検討したところ、添加により有意に増加した(図3)。

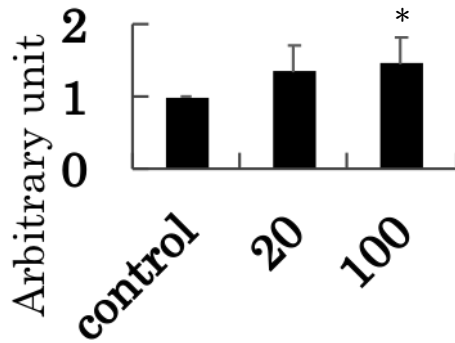
また、褐色脂肪細胞活性化のマスターレギュレーターと言われているPGC-1 α も有意に増加した。さらに脂肪合成関連遺伝子のfatty acid synthesisとアセチルCoAカルボキシラーゼの有意な増加を認めた。また、脂肪酸の細胞内取り込みに必要なCD36の遺伝子発現の有意な増加を認めた。

図3

UCP-1 遺伝子発現



UCP-1 蛋白発現



CXCL12-CXCR4 は褐色脂肪細胞において、活性化に関与することが明らかとなった。さらに、生体内では糖代謝に影響を与えることが明らかとなった。今後、これらの研究を進めることにより、肥満糖尿病の新しい治療法の開発につながる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 4 件)

1. 栗田 健市、石川 耕、新規褐色脂肪活性化因子 CXCL12 の検討、日本糖尿病学会、2017 年
2. 石川 耕、褐色脂肪組織活性化による非ふるえ熱産生における CXCL12 の役割の解明、糖尿病療養指導士学会、2016 年
3. 栗田 健市、石川 耕、CXCL12 is a new physiological activator for brown adipocyte. アディポサイエンスシンポジウム、2016 年
4. 石川 耕、A CXCL12 is one of the activation factors in a brown adipocyte. 第 9 回 次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム、2015 年

〔図書〕(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.m.chiba-u.ac.jp/dept/clin-ce/llbiol/research/diabetic/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石川 耕 (ISHIKAWA, Ko)

千葉大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80456087

(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

栗田 健市 (KURITA, Kenichi)

千葉大学 大学院医学研究院

武田 健治 (TAKEDA, Kenji)

千葉大学 大学院医学研究院