

平成 30 年 6 月 6 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09389

研究課題名(和文) 脂肪細胞の質的異常モデルを用いた代謝異常症およびNASHの分子機構の解明

研究課題名(英文) Investigation into the molecular mechanism for metabolic disease and NASH using mouse model with adipocyte dysfunction

研究代表者

細岡 哲也 (Hosooka, Tetsuya)

神戸大学・医学研究科・助教

研究者番号：60590594

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)：インスリンによる代謝作用の発現に中心的な役割を担う分子PDK1の脂肪細胞特異的欠損マウスはインスリン抵抗性と非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)を呈する。一方、PDK1下流の転写因子FoxO1を脂肪細胞において追加欠損するマウスにおいてこれらの病態は改善する。代表者は両マウスを用いたオミックス解析により脂質メディエーターLTB4がインスリン抵抗性とNASHの病態に関与すること、脂肪細胞のインスリンシグナルがPDK1-FoxO1経路を介して5-L0-LTB4軸を負に制御することを同定した。脂肪細胞の5-L0-LTB4軸はインスリン抵抗性と関連疾患に対する治療標的に資する可能性がある。

研究成果の概要(英文)：PDK1 is a key molecule which mediates metabolic action of insulin. Adipocyte-specific PDK1 deficient mice develop systemic insulin resistance and nonalcoholic steatohepatitis (NASH). This phenotype in A-PDK1KO mice is suppressed by additional ablation of the transcriptional factor FoxO1 specifically in adipocytes. Taking advantage of lipid mediators metabololipidomics, we uncovered that a lipid mediator LTB4 is involved in the pathogenesis of systemic insulin resistance and NASH. Experiments with isolated adipocytes revealed that insulin inhibits LTB4 production through down-regulation of 5-L0 expression via the PDK1-FoxO1 pathway. Thus, 5-L0-LTB4 axis in adipocytes could provide a novel therapeutic target for the treatment of insulin resistance and the related disease.

研究分野：代謝学

キーワード：インスリン抵抗性 非アルコール性脂肪性肝炎 脂肪細胞 インスリンシグナル 脂質メディエーター
LTB4

1. 研究開始当初の背景

インスリン抵抗性や2型糖尿病などの代謝異常症の病態に脂肪細胞の機能不全が関与すると考えられているが、分子機構の詳細は不明である。脂肪細胞の有する多くの機能の調節において脂肪細胞のインスリンシグナルが中心的な役割を担うことから、代表者は、インスリンシグナルの要分子 PDK1 を脂肪細胞特異的に欠損する脂肪細胞特異的 PDK1 ノックアウトマウス (A-PDK1KO マウス) を作製し表現型の解析を行った。本マウスは、通常食環境において著明なインスリン抵抗性と糖脂質代謝異常に加え、肝細胞における脂肪蓄積と風船様変性、肝組織の線維化、炎症細胞浸潤といったヒトの NASH (nonalcoholic steatohepatitis) と同様の所見を呈した。代表者は、PDK1 により活性が抑制される転写因子 FoxO1 を脂肪細胞特異的に追加欠損する脂肪細胞特異的 PDK1/FoxO1 ダブル欠損マウス (A-PDK1/FoxO1DKO マウス) を作製した。A-PDK1KO マウスで認められたインスリン抵抗性と NASH は A-PDK1/FoxO1DKO マウスにおいて顕著な改善が認められた。この際、A-PDK1KO マウスにおいて認められる低アディポネクチン・低レプチン血症や脂肪量の減少などの変化は A-PDK1/FoxO1DKO マウスにおいて改善しなかった。すなわち、脂肪細胞の PDK1-FoxO1 軸は、既知の脂肪細胞機能とは独立した新たなメカニズムによりインスリン抵抗性や NASH の病態に関与することが示唆された。

2. 研究の目的

代表者は A-PDK1KO マウスおよび A-PDK1/FoxO1DKO マウスの作製と表現型の解析を通じて、脂肪細胞の PDK1-FoxO1 経路が既知の脂肪細胞機能とは独立した新たなメカニズムによりインスリン抵抗性や NASH の病態を制御することを見出した。本研究は、両モデルマウスを用いたオミックス解析によりインスリン抵抗性と NASH の分子メカニズムを解明することを目的とした。

3. 研究の方法

A-PDK1KO マウスと A-PDK1/FoxO1DKO マウスならびに対照マウスの血漿、脂肪組織を用いたリポドーム解析により脂質メディエーターの測定を行った。リポドーム解析は液体クロマトグラフィーと質量分析を組み合わせた LC-MS/MS を用いた。本法はアラキドン酸、DHA および EPA 由来の脂質メディエーターあるいは pathway マーカーを包括的かつ鋭敏に検出

することが可能である。

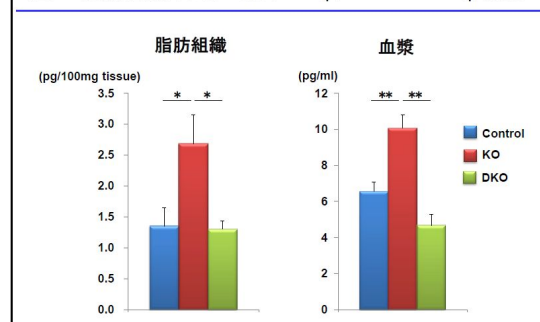
また、上記マウスの脂肪組織を用いたマイクロアレイ解析により遺伝子発現変化の網羅的解析を行った。

オミックス解析において同定した LTB₄ の薬理的阻害効果を検討するために、LTB₄ の受容体 BLT1 のアンタゴニスト (CP105696, 0.04%(w/w)) を A-PDK1KO マウスに混餌投与した。

4. 研究成果

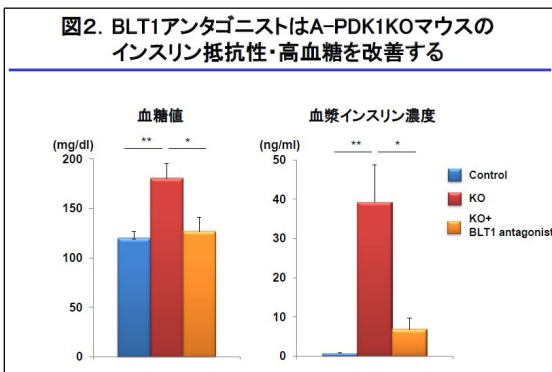
A-PDK1KO マウスと A-PDK1/FoxO1DKO マウスの血漿および脂肪組織を用いたリポドーム解析により脂質メディエーター濃度を包括的に測定した。その結果、A-PDK1KO マウスにおいて leukotriene B₄ (LTB₄) 濃度が増加し、A-PDK1/FoxO1DKO マウスにおいてその変化が正常化することを見出した(図1)。さらに、両マウスの脂肪組織を用いたマイクロアレイ解析を行ったところ、LTB₄ 濃度の変化と一致して、LTB₄ の産生酵素 5-lipoxygenase (5-LO) の発現が A-PDK1KO マウスにおいて増加し、A-PDK1/FoxO1DKO マウスにおいて正常化した。初代培養脂肪細胞を用いた実験において、5-LO の発現および培養上清中 LTB₄ 濃度は、インスリン刺激や FoxO1 阻害薬処理により低下することを見出した。すなわち、5-LO-LTB₄ 軸は、インスリン/PDK1/FoxO1 経路によって直接制御されることが明らかとなった。

図1. 脂肪組織および血漿中 LTB₄ (Leukotriene B₄) 濃度



我々は、インスリン抵抗性とその関連疾患の病態形成における LTB₄ の病態生理学的意義を明らかにするために、A-PDK1KO マウスに LTB₄ 受容体である BLT1 のアンタゴニストを混餌投与しその効果を検証した。結果、A-PDK1KO マウスのインスリン抵抗性ならびに高血糖は BLT1 アンタゴニスト投与により顕著な改善が認められた(図2)。ヒトの血漿サンプルを用いた解析において、血漿中 LTB₄ 濃度はインスリン抵抗性指標で

ある HOMA-IR や血中インスリン濃度と正の相関を示した。さらに、健常者と比べ NASH 患者において血漿中 LTB₄ 濃度が高値を呈することを見出した。



以上の結果より、脂肪細胞におけるインスリン作用障害は、5-L0 の発現増加を介した LTB₄ の過剰産生により全身のインスリン抵抗性とその関連疾患の病態形成に關与することが明らかとなった。5-L0/LTB₄/BLT1 経路はインスリン抵抗性とその関連疾患に対する治療標的に資するものと考えられる。

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 3 件)

Matsugi K, Hosooka T, Kazuhiro N, and Ogawa W. Thrombospondin 1 Suppresses Insulin Signaling in C2C12 Myotubes. Kobe J Med Sci. 査読有, 2016, 62: E13-8.

Hosooka T, Ogawa W. A novel role for the cell cycle regulatory complex cyclin D1-CDK4 in gluconeogenesis. J Diabetes Investig. 査読有, 2016, 7: 27-8. doi: 10.1111/jdi.12369.

Kraus BJ, Sartoretto JL, Polak P, Hosooka T, Shiroto T, Eskurza I, Lee SA, Jiang H, Michel T, Kahn BB. Novel role for retinol-binding protein 4 in the regulation of blood pressure. 査読有, FASEB J. 2015, 29: 3133-40. doi: 10.1096/fj.14-266064.

[学会発表](計 10 件)

細岡哲也, 小川渉, Insulin signaling in

adipocytes and metabolic regulation, 第 22 回アディポサイエンス・シンポジウム, 2017.8.19, 千里ライフサイエンスセンター (大阪)

細岡哲也, 小川渉, 脂肪細胞のインスリンシグナルによる遠隔的代謝制御のメカニズム, 第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会 2017.5.18-20, 名古屋国際会議場 (愛知)

細岡哲也, 小川渉, 脂肪細胞のインスリンシグナルと代謝異常, 第 54 回日本臨床分子医学会学術集会, 2017.4.14-15, 東京国際フォーラム (東京)

細岡哲也, 小川渉, PDK1-FoxO1 pathway in adipocytes contributes to the pathogenesis of insulin resistance and NASH, 第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2016.5.19-21, 国立京都国際会館 (京都)

細岡哲也, 松木核, 野村和弘, 松居翔, 佐々木努, 北村忠弘, 江口潤, Evan D. Rosen, 中江淳, Domenico Accili, 黒田雅士, 阪上浩, 春日雅人, 小川渉, インスリン抵抗性および NASH の病態形成における脂肪細胞 PDK1-FoxO1 経路の意義, 第 89 回日本内分泌学会学術総会, 2016.4.19-21, 国立京都国際会館 (京都)

Kasuga M, Hosooka T, and Ogawa W, Insulin signaling network for understanding diabetes, Keystone symposium, 2015.10.25-29 Kyoto (Japan)

Hosooka T, Matsugi K, Nomura K, Matsui S, Sasaki T, Kitamura T, Eguchi J, Rosen ED, Nakae J, Accili D, Kuroda M, Sakae H, Kasuga M, and Ogawa W, Adipocyte-specific PDK1 deletion causes insulin resistance, disorder of glucose and lipid metabolism, and NASH, The 8th Asia-Oceania Conference on Obesity, 2015.10.2-4, Nagoya (Japan)

細岡哲也, 松木核, 野村和弘, 松居翔, 佐々木努, 北村忠弘, 江口潤, Evan D. Rosen, 中江淳, Domenico Accili, 黒田

雅士、阪上浩、春日雅人、小川涉、脂肪細胞のインスリン作用障害による代謝異常および NASH 発症・進展の分子機構の解明、第 36 回日本肥満学会年次学術集会、2015.10.2-3、名古屋国際会議場（愛知）

細岡哲也、小川涉、脂肪細胞のインスリンシグナルと代謝異常・NASH、第 58 回日本糖尿病学会年次学術集会、2015.5.21-24、海峡メッセ下関他(山口)

細岡哲也、松木核、野村和弘、松居翔、佐々木努、北村忠弘、江口潤、Evan D. Rosen、中江淳、Domenico Accili、春日雅人、小川涉、インスリン抵抗性および糖代謝異常の病態における脂肪細胞の PDK1-FoxO1 経路の意義の解明、2015.5.21-24、海峡メッセ下関他(山口)

細岡哲也、松木核、野村和弘、松居翔、佐々木努、北村忠弘、江口潤、Evan D. Rosen、中江淳、Domenico Accili、春日雅人、小川涉、代謝異常症および 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、2015.4.23-25、ホテルニューオータニ東京（東京）

〔図書〕(計 5 件)

細川友誠、細岡哲也、小川涉、ロイコトリエンとインスリン抵抗性、Diabetes Frontier、2017、623-629

細岡哲也、小川涉、肥満症診断基準には含めないが、肥満に関連する疾患と治療法 悪性疾患(がん)、内分泌・糖尿病・代謝内科、2016、318-324

倉本尚樹、細岡哲也、小川涉、インスリンシグナルとその破綻、実験医学、2016、70-76

生天目侑子、細岡哲也、小川涉、新時代の臨床糖尿病学 糖尿病における癌発症機序、日本臨床、2016、405-410

細岡哲也、小川涉、インスリン作用の Key Molecules PDK1、Diabetes Frontier、2015、499-503

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称：非アルコール性脂肪性肝炎とインスリン抵抗性改善剤のスクリーニング法
発明者：細岡哲也、小川涉
権利者：国立大学法人神戸大学
種類：特許
番号：2016-213640
出願年月日：2016 年 10 月 31 日
国内外の別：国内

取得状況(計 0 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

細岡 哲也 (Hosooka, Tetsuya)
神戸大学大学院医学研究科・助教
研究者番号：60590594

(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

()