

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 4 月 20 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K12695

研究課題名(和文) 体内エネルギー貯蔵分子の消費選択機構への介入に基づく抗肥満療法の開発

研究課題名(英文) Intervention in fuel choice system for treatment of obesity

研究代表者

田中 廣壽 (TANAKA, HIROTOSHI)

東京大学・医科学研究所・教授

研究者番号：00171794

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：消費される体内エネルギー貯蔵分子のカテゴリー(脂質・タンパク質・糖質)を、個体内外の状況に応じて選択する生理機構、とくに脂質の動員量を規定する機構を解明した。すなわち、肝臓におけるFGF21プロモーターレポーターアデノウイルスシステムを用いて、FGF21遺伝子発現を標的としたスクリーニングにより数種のアミノ酸が鍵シグナルであることを発見した。かかる生理機構を標的としたアミノ酸拮抗物質などによる人為的介入によって、脂質の優先的な消費を介した肥満・生活習慣病の予防・治療効果を、動物モデルにおいて検証した。

研究成果の概要(英文)：We clarified the physiological mechanism that selects the categories (lipids, proteins, carbohydrates) of body energy storage molecules consumed according to the situation inside and outside the individual, in particular the mechanism that regulates the amount of lipid mobilization. That is, using the FGF21 promoter reporter adenovirus system in the liver, we found that several amino acids are key signals by screening targeting FGF21 gene expression. The preventive and therapeutic effects of obesity and lifestyle diseases through preferential consumption of lipids were verified in animal models by human intervention such as amino acid antagonists targeting such physiological mechanisms.

研究分野：内科学

キーワード：内分泌学 代謝学 分子生物学 FGF21 アミノ酸

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

研究の学術的背景

体内脂肪組織の過剰な蓄積(肥満)を防ぐことは、現代の本邦を含む先進諸国に生活する人々の多くにとって、健康に有益な効果が大きい。例えば、糖尿病や心血管系疾患など生活習慣病の発症リスクが軽減され、また体重の減少に伴う運動能力の改善がもたらされる。体内エネルギー貯蔵に利用される生体分子は主に、中性脂肪(脂質)・タンパク質・グリコーゲン(糖質)の三つのカテゴリーからなる。貯蔵エネルギーの利用において、優先的に脂質を利用することができれば、肥満の予防・解消に貢献できると考えられる。しかし、消費される貯蔵分子の選択(fuel choice)を制御している生理的メカニズムの全貌は不明であり、有効な介入の標的となりうる制御因子も明らかになっていない。

応募者らは、タンパク質の最大の貯蔵臓器である骨格筋において、タンパク質の異化過程の促進に、副腎皮質ホルモンであるグルココルチコイド、およびその細胞内受容体であるグルココルチコイドレセプター(GR)が中心的役割を果たしていることを示した[Shimizu N, et al. Cell metabolism 13:170-182 (2011)]。すなわち、GRはグルココルチコイドによって活性化され、タンパク質同化のカギ因子 mammalian target of rapamycin (mTOR)活性を抑制すると同時に、タンパク質異化を促進するオートファジー系・プロテアソーム系を転写レベルで亢進する。ここで応募者らは、骨格筋タンパク質の異化により生じる遊離アミノ酸の供給増加は、アミノ酸代謝物のTCAサイクルへの流入や、血流を介して肝臓に輸送されるアラニンを基質とした糖新生(グルコース-アラニン回路)によるエネルギー利用に寄与すると考えた。さらに、かかる遊離アミノ酸供給を抑制することで、タンパク質以外の貯蔵分子、脂質利用の亢進を誘導できる可能性を見いだした。実際、骨格筋特異的にGRをノックアウトしたGRmKOマウスを作製したところ、内因性グルココルチコイドの血漿中濃度は変わらないまま、予測通り骨格筋量の増加、血漿中アラニン濃度減少、脂質利用亢進作用のあるホルモンFGF21の肝臓における産生増加とともに、脂肪組織の著明な縮小が観察された。これらの知見は、消費されるエネルギー貯蔵分子の選択機構を解明するブレイクスルーとなりうると考えられる。

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとするのか

以上の未発表成果をふまえ、消費される体内エネルギー貯蔵分子のカテゴリー(脂質・タンパク質・糖質)を、個体内外の状況に応じて選択する生理機構、とくに脂質の動員量を規定する機構を、明らかにする。さらに、かかる生理機構を標的とした人為

的介入による、脂質の優先的な消費を介した肥満・生活習慣病の予防・治療効果を、動物モデルにおいて実証することを目的とする。

当該分野における本研究の学術的な特色及び予想される結果と意義

本研究は、応募者が独自に開発した動物モデルの表現型解析結果に基づいて予測される未知の生理機構を解明すると同時に、生活習慣病克服にむけた人為的介入標的を新たに見いだすものであり、期待される成果の生理学・医学的、社会的インパクトは非常に大きい。

2. 研究の目的

生活習慣病を予防・治療する新たな方法を開発する。そのために、体内に貯蔵されている中性脂肪(脂質)・タンパク質・グリコーゲン(糖質)が、エネルギーとして消費される優先順位、あるいは階層性が、遺伝的に固定されているのではなく、動的に制御されていることを明らかにする。かかる制御の分子機構を解明し、脂質の優先的な消費をもたらす人為的介入の標的分子を同定する。さらに、動物モデルを用いて、消費される貯蔵分子の選択(fuel choice)の操作という、まったく新しい方法論に基づいた抗肥満療法の有効性を証明することを目的とする。

3. 研究の方法

消費される体内エネルギー貯蔵分子のカテゴリー(脂質・タンパク質・糖質)を、個体内外の状況に応じて選択する生理機構、とくに脂質の動員量を規定する機構を、以下のサブテーマ1)-3)の各点に焦点を絞って明らかにする。

サブテーマ1) GRmKOマウスにおける、血中アラニン濃度減少と脂肪組織減少の関係

野生型に比して血中アラニン濃度が低い、GRmKOマウスに、アラニンを経口補充し、その表現型を解析する。経口投与は、胃ゾンデを使った単回投与による急性的補充と、食餌中のアラニン含量を増強した慢性的補充について行う。アラニン補充による個体の脂肪組織増加を、組織重量測定、マイクロCT撮影によって確認する。骨格筋、肝臓、白色脂肪組織、褐色脂肪組織において、遺伝子発現プロファイリングおよびメタボローム解析を行い、各組織におけるアラニンの下流シグナルを探索し同定する。

サブテーマ2) 骨格筋から血中へのアラニン放出を制御する分子機構

骨格筋細胞において、アラニンに結合するタンパク質を、アフィニティービーズ法によって網羅的に精製し、同定する。さらに、同定したアラニン結合タンパク質の機能解析と、サブテーマ1)で得られる骨格筋遺伝子発現プロファイル情報を統合し、アラニン放出機構の解明をおこなう。

サブテーマ3) 血中アラニン濃度のセンシング機構

細胞内に輸送されたアラニンの量が、肝細胞内で検知されて、FGF21 mRNA 発現量に影響を与える機構を解明する。肝細胞内においてアラニンと結合するタンパク質を網羅的に同定し、その機能解析を行う。また、サブテーマ1)で得られる肝臓遺伝子発現・メタボロームプロファイル情報に加え、マウス初代培養肝細胞および個体肝組織を利用したレポーターアッセイ、クロマチン免疫沈降を駆使し、FGF21の転写機構を解明する。

4. 研究成果

サブテーマ1) GRmKO マウスにアラニンを経口補充したところ、個体の脂肪組織量は有意に増加した。骨格筋、肝臓、白色脂肪組織、褐色脂肪組織における遺伝子発現プロファイリング解析によって、アラニン投与はFGF21の脂肪組織における作用を打ち消した。

サブテーマ2) 骨格筋から血中へのアラニン放出を制御する分子機構

アラニン結合アフィニティービーズを作成し、骨格筋細胞抽出液を用いてアラニン結合タンパク質を精製した。複数の候補分子が得られた

サブテーマ3) 血中アラニン濃度のセンシング機構

クロマチン免疫沈降などによって、細胞内アラニン量は、肝細胞の FGF21 遺伝子の発現を ATF4 を介して転写レベルで制御することがわかった。

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5件)

Toshiki Eri, Kimito Kawahata, Takeyuki Kanzaki, Mitsuru Imamura, Kazuya Michishita, Lisa Akahira, Ei Bannai, Noritada Yoshikawa, Yasumasa Kimura, Takeshi Satoh, Satoshi Uematsu, Hiroto Tanaka, and Kazuhiko Yamamoto
Intestinal microbiota link lymphopenia to murine autoimmunity via PD-1+CXCR5⁺dim B-helper T cell induction.
Sci Rep. 2017 (in press)

Ono T, Kamimura N, Matsushashi T, Nagai T, Nishiyama T, Endo J, Hishiki T, Nakanishi T, Shimizu N, Tanaka H, Ohta S, Suematsu M, Ieda M, Sano M, Fukuda K, Kaneda R.
The histone 3 lysine 9 methyltransferase inhibitor chaetocin improves prognosis in a rat model of high salt diet-induced heart failure.

Sci Rep. 2017 Jan 4;7:39752. doi: 10.1038/srep39752.

Erika Matsubara, Noritada Yoshikawa, Osamu Hosono, Hiroyuki Baba, Toshiki Eri, Masaaki Uehara, Aya Oda, Chieko Sekita, Atsuo Taniguchi, Hiroto Tanaka
A rheumatoid arthritis patient complicated with adenosine phosphoribosyltransferase deficiency and unilateral renal agenesis: a first case report
Modern Rheumatology Case Reports, 1:1, 15-19, 2017

Yoshikawa N, Shimizu N, Uehara M, Oda Y, Matsumiya R, Matsubara E, Kobayashi H, Hosono O, Kuribara-Souta A, Baba H, Nagamura F, Kiryu S, Tanaka H.
The effects of bolus supplementation of branched-chain amino acids on skeletal muscle mass, strength, and function in patients with rheumatic disorders during glucocorticoid treatment.
Modern Rheumatology 2016 Sep 28:1-10. [Epub ahead of print]

Ito N, Shimizu N, Tanaka H, Takeda S.
Enhancement of Satellite Cell Transplantation Efficiency by Leukemia Inhibitory Factor.
J Neuromuscul Dis. 3:201-207, 2016.

Kobayashi H, Uehara M, Oda A, Matsubara E, Baba H, Matsumiya R, Yoshikawa N, Hosono O, Tanaka H.
Normal pressure hydrocephalus, a possible complication in IgG4-related disease. Interdisciplinary Neurosurgery. 5:1-2, 2016.

〔学会発表〕(計5件)

田中廣壽
メカノ-メタボ カプリングに関する研究 - 骨格筋-エネルギー代謝関連
第24回 日本ステロイドホルモン学会学術集会
ホルトホール大分(大分県大分市)、2016年12月3日

清水宣明、田中廣壽、他
骨格筋グルココルチコイド受容体を介した個体レベルの脂質代謝制御
第39回 日本分子生物学会年会
パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)、2016年11月30日-12月2日

田中廣壽

Mechano-Metabo Coupling: Skeletal muscle volume regulation and systemic energy metabolism
第 59 回 日本糖尿病学会年次学術集会
国立京都国際会館(京都府京都市)、2016 年 5 月 19-21 日

清水宣明、田中廣壽、他
骨格筋-肝臓-脂肪組織シグナル軸とメカノ-メタボカップリング
第 2 回 日本筋学会学術集会
東京都小平市、2016 年 8 月 5-6 日

伊藤尚基、田中廣壽、他
筋衛星細胞の不均一性の解析に基づいた骨格筋前駆細胞誘導法の開発
第 2 回 日本筋学会学術集会
東京都小平市、2016 年 8 月 5-6 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 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
<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/Rheumatology/allergy/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中廣壽 (TANAKA, Hirotoshi)
東京大学・医科学研究所・教授
研究者番号：00171794

(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 ()