

令和元年6月18日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07300

研究課題名(和文) マクロファージのグアニリンとその受容体によるエネルギー代謝調節機構の解明

研究課題名(英文) The system of energy regulation by guanylin and its receptor expressed macrophages

研究代表者

秋枝 さやか (AKIEDA, SAYAKA)

宮崎大学・フロンティア科学実験総合センター・准教授

研究者番号：20549076

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)：Gn/GC-Cをマクロファージ特異的に発現させたTgラットでは高脂肪食摂取によりPKG (Protein kinase G)/VASP(Vasodilator-stimulated phosphoprotein)経路の亢進が認められ、高脂肪食を摂取しても脂肪組織へのマクロファージの浸潤や炎症性サイトカインの発現が抑制されていた。これらのことから、マクロファージのGn/GC-Cは、cGMP/PKG/VASP経路を介して炎症性サイトカインの発現を抑制し、高脂肪食による慢性炎症や肥満を抑制している可能性が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

申請者は、高脂肪食耐性ラットの臓脂肪組織内マクロファージにおいてGn/GC-Cが高発現していることを見出した。腸管上皮においては、Gn/GC-Cは、水や電解質の調節に機能することがよく知られている。しかし、これまでマクロファージにおけるGn/GC-Cシステムの機能や肥満との関連については研究がされていなかった。本研究の成果は、マクロファージのGn/GC-Cシステムが肥満制御に機能的な意義を持つ生体制御システムであることを解明するものであり、生活習慣病予防や治療に寄与するメカニズムを解明できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Guanylin (Gn), a bioactive peptide, and its receptor, guanylyl cyclase-C (GC-C), are primarily present in the intestine and function to maintain homeostasis of body fluid. Recently, we found that rats whose macrophages overexpress Gn and GC-C, are resistant to diet-induced obesity. In this study, we demonstrate that a HFD failed to induce a chronic inflammatory state in the mesenteric fat of rats that overexpressed both Gn and GC-C in their macrophages. In addition, we showed that the Gn-GC-C system in macrophages regulates the cGMP-PKG-VASP system, decreasing inflammatory factors such as TNF α , Cox-2, and iNOS through the inhibition of the NF- κ B pathway. Our data provide new insight into the development of treatments for obesity and related diseases.

研究分野：内分泌学・代謝学

キーワード：マクロファージ 肥満

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肥満は、エネルギー恒常性が破綻した状態であり、恒常性の維持には、エネルギー摂取と消費のバランスが重要である。しかし、一方で、高カロリー食に対する生体の反応にはバリエーションが大きく、遺伝子背景が均一であるマウスにおいても、高脂肪食で変動する遺伝子変化は個体間で大きく異なることが知られている。本研究に先駆け、申請者の研究グループは、自然に存在する高脂肪食に耐性を示すラットの中には、生理活性ペプチドであるグアニリン(Gn)とその受容体である GC-C の両分子が、マクロファージに高発現している個体があることを見出した(Akieda, et al. ORCP 2013; Akieda, et al. J Lipid Res 2013)。Gn および GC-C は、主に消化管で発現し、水・電解質代謝調節に機能していることが知られているが、マクロファージでの発現や肥満制御分子としての役割は全く報告されておらず、高脂肪食への曝露から生体を防御する新たな機能分子として着目される。

2. 研究の目的

申請者は、高脂肪食を摂取しても肥満を呈さない肥満抵抗性ラットの解析から、内臓脂肪組織内マクロファージにおいて、生理活性ペプチド;グアニリン(Gn)と、その受容体であるグアニリル酸シクラーゼ C(GC-C)が高発現していることを見出した。さらに、Gn/GC-C をマクロファージ特異的に発現させたダブルトランスジェニック(Tg)ラットを作製し、同 Tg ラットも肥満抵抗性であることを明らかにしてきた。本研究では、Tg ラットを用いて Gn/GC-C システムとエネルギー代謝特性との関連を検討するとともに、Gn/GC-C 発現マクロファージの細胞内カスケードを明らかにし、Tg ラットの炎症制御や肥満抵抗性との関連を解明する。

3. 研究の方法

1) Tg ラットのエネルギー代謝特性と Gn/GC-C システムの機能関連

Gn/GC-C Tg ラットは、高脂肪食摂取 10 週目以降には野生型(WT)ラットの体重を下回る。そこで、体重差のない高脂肪食摂取 5 週目、体重差が付き始める 10 週目、明らかな体重差を認める 20 週目の Tg と WT ラットで、体温、褐色脂肪組織の UCP1 発現、酸素消費量、行動量を測定する Tg ラットを用いて、Gn/GC-C システムとリンクした生体のエネルギー代謝特性を検討するため、糖代謝や脂質代謝に関連する Gn/GC-C システムの役割を明らかにする。

2) マクロファージにおける Gn/GC-C カスケードと炎症制御との関連

消化管では、Gn は GC-C と結合した後、細胞内 cGMP をセカンドメッセンジャーとして cGMP 依存性プロテインキナーゼ ; PKG を増加させることが知られている。また最近、PKG とそのターゲットタンパク ; vasodilator-stimulated phosphoprotein(VASP)の活性化が炎症性サイトカインの産生を抑制することが報告された。本研究では、高脂肪食で飼育した Tg ラットの脂肪組織、高脂肪食で飼育した Tg ラットの脂肪組織から単離したマクロファージを用いて、PKG 発現および VASP のリン酸化を Western blotting で評価し、Tg ラットの炎症制御や肥満抵抗性と PKG/VASP システムの関連を検討することで、Tg ラットの炎症制御や肥満抵抗性と Gn/GC-C の下流のカスケードと想定される cGMP/PKG/VASP システムの関連を検討する。

4. 研究成果

1) Gn/GC-C Tg ラットを用いて、Gn/GC-C システムと生体のエネルギー代謝特性との関連を検討した。Gn/GC-C Tg ラットは、高脂肪食摂取 10 週目以降に WT ラットの体重を下回る。耐糖能

試験やインスリン負荷試験を行なった場合には、WT ラットで耐糖能異常やインスリン抵抗性が認められるが、Tg ラットでは認められなかった。また、WT ラットに比べ Tg ラットは、行動量や酸素消費量が有意に高かった。さらに、体温、褐色脂肪組織の UCP1 発現には WT と Tg ラットに差は認められなかったが、腸間膜脂肪組織の脂肪酸 酸化酵素の発現が Tg ラットでは増加していた。

2) Gn/GC-C発現マクロファージの炎症抑制機序を解析した。高脂肪食摂取した野生型(WT)ラットでは、腸間膜脂肪組織のマクロファージにおいて、炎症性サイトカインの発現が普通食を摂取したWTラットに比べ有意に増加したが、Gn/GC-Cを発現するTgラットのマクロファージでは、炎症性サイトカインの発現は普通食を摂取したTgラットと同程度であり、炎症性サイトカイン発現の増加は認められなかった。また、Tgラットでは高脂肪食摂取によりPKG(Protein kinase G)/VSAP(Vasodilator-stimulated phosphoprotein)経路の亢進が認められ、高脂肪食を摂取しても脂肪組織へのマクロファージの浸潤が抑制されていた。これらのことから、マクロファージのGn/GC-Cは、cGMP/PKG/VASP経路を介して炎症性サイトカインの発現を抑制し、高脂肪食による慢性炎症や肥満を抑制している可能性が明らかとなった。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計4件)

1. Han W, Utoyoma M, Akieda-Asai S, Hidaka A, Yamada C, Hasegawa K, Nunoi H, Date Y: Influence of food texture on energy metabolism and adiposity in male rats. *Exp Physiol*, 103 (10), 1347-1356, 2018 (査読有)
2. Akieda-Asai S, Ida T, Miyazato M, Kangawa K, Date Y: Interleukin-15 derived from Guanylin-GC-C-expressing macrophages inhibits fatty acid synthase in adipocytes. *Peptides*, 99, 14-19, 2018 (査読有)
3. Yasuda M, Kawabata J, Akieda-Asai S, Nasu T, Date Y: Guanylyl cyclase C and guanylin reduce fat droplet accumulation in cattle mesenteric adipose tissue. *J Vet Sci*, 18 (3), 341-348, 2017 (査読有)
4. Utoyama M, Akieda-Asai S, Koda S, Nunoi H, Date Y: Role of the neural pathway from hindbrain to hypothalamus in the regulation of energy homeostasis in rats. *Neurosci Lett*, 614, 83-88, 2016 (査読有)

〔学会発表〕(計13件)

1. Han W, Utoyama M, Akieda-Asai S, Date Y: 食物の性状の違いがエネルギー代謝や脂肪蓄積に及ぼす影響. Influence of food texture on energy metabolism and adiposity in male rats. 第91回アディポサイエンス研究会, 18 August, 2018
2. 秋枝さやか, 井田隆徳, 宮里幹也, 伊達紫: グアニリンおよびグアニル酸シクラーゼC高発現マクロファージ由来のIL-15は脂肪細胞の脂肪酸合成を抑制する, 第91回日本内分泌学会, 28 April, 2018

3. 秋枝さやか, 伊達紫: 農と食の未来を切り拓け! ホルモン研究-「食物の性状が糖代謝や脂質代謝に及ぼす影響」 ConBio2017, 6 December, 2017 (ワークショップ招待講演)
4. Akieda-Asai S, Date Y: Sex differences in high-fat diet-induced obesity in rats. Gender Summit 10, Satellite Conference, 29-30 May, 2017
5. Han Wanxin, 秋枝さやか, 宇藤山麻衣子, 伊達紫: Effects of food texture on the expressions of glucose transporters and gut microbiota in rats. 平成29年度日本生化学会九州支部例会, 13 May, 2017
6. 宇藤山麻衣子, Han Wanxin, 秋枝さやか, 伊達紫: 軟食自由摂食ラットにおける内臓脂肪蓄積と摂食調節因子. 平成29年度日本生化学会九州支部例会, 13 May, 2017
7. 秋枝さやか, Han Wanxin, 宇藤山麻衣子, 伊達紫: 食物の性状が腸内グルコーストランスポーターや腸内微生物に及ぼす影響, 第90回日本内分泌学会, 22 April, 2017
8. 伊達紫, 秋枝さやか, 北村忠弘: 食物の性状により引き起こされる2型糖尿病の病態解析, 第26回臨床内分泌代謝Update, 大宮, 15 November, 2016. (シンポジウム)
9. 宇藤山麻衣子, 秋枝さやか, 幸田修一, 布井博幸, 伊達紫: 延髄-視床下部の神経遮断ラットにおけるエネルギー代謝の検討. 第43回神経内分泌学会, 15 October, 2016
10. Han Wanxin, 秋枝さやか, 宇藤山麻衣子, 伊達紫: 軟らかい食物が腸内グルコーストランスポーターや腸内微生物に及ぼす影響. 第37回日本肥満学会, 東京, 8 October, 2016
11. 宇藤山麻衣子, Han Wanxin, 秋枝さやか, 伊達紫: Soft diet 自由摂食ラットにおける内臓脂肪蓄積と摂食調節因子. 第37回日本肥満学会, 東京, 8 October, 2016
12. 長谷川和哉, 秋枝さやか, 伊達紫: ラットへの軟食自由摂食によるエネルギー代謝バランスと内臓脂肪蓄積. 第89回日本内分泌学会, 京都, 23 April, 2016
13. 長谷川和哉, 秋枝さやか, 伊達紫: Possible involvement of food texture in insulin resistance and energy metabolism in rats. 第10回Cardio-Diabetes 研究会, 東京, 3 March, 2016

〔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〕

ホームページ等

<http://www.med.miyazaki-u.ac.jp/peptides/date/jp/>

6．研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：伊達 紫

ローマ字氏名：(DATE, yukari)