

令和元年6月14日現在

機関番号：35409

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08272

研究課題名(和文) 低酸素誘導因子阻害剤のアディポネクチン高発現ベージュ細胞誘導を介した抗糖尿病作用

研究課題名(英文) Anti-diabetic effects of an inhibitor of Hypoxia-inducible factor via induction of adiponectin highly expressing beige adipocytes

研究代表者

木平 孝高 (KIHIRA, Yoshitaka)

福山大学・薬学部・講師

研究者番号：90377276

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)：肥満に伴い脂肪細胞が肥大化すると、脂肪細胞は機能異常を来し、これが全身のインスリン抵抗性の発現につながる。我々は、肥大した脂肪細胞に低酸素誘導因子(HIF)が発現することに着目し、研究を行った。その結果、脂肪細胞のHIFを抑制すると、善玉アディポカインとして知られるアディポネクチンの産生が促進し、エネルギー消費を亢進する脱共役タンパク質の発現が上昇したことから、脂肪細胞のHIFを制御することにより脂肪の機能が良好になる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究に置いて肥満に伴う脂肪細胞の機能異常発現のメカニズムの一端および脂肪に発現する低酸素誘導因子の発現制御により肥満に伴う脂肪細胞の機能異常を是正することができる可能性が示された。肥満人口は世界的に上昇してきており、糖尿病やその他合併症につながる原因として、その予防法の開発が叫ばれる中、本研究において示された低酸素誘導因子の制御による脂肪細胞の機能調節は、肥満から糖尿病につながる過程を抑制する方法につながると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Adipocytes are hypertrophied in obese subjects. The hypertrophied adipocytes show functional abnormality, leading to whole-body insulin resistance. We focused on hypoxia-inducible factor (HIF), which is upregulated in hypertrophied adipocytes. Inhibition of HIF in adipocytes increased adiponectin and uncoupling protein 1, indicating adipocytes show better function.

研究分野：薬理学

キーワード：低酸素誘導因子 肥満 糖尿病 脂肪細胞

1. 研究開始当初の背景

近年の肥満・糖尿病領域の研究から、白色脂肪組織中に、脱共役タンパク質(UCP1)を発現しエネルギー消費を行う褐色脂肪細胞様の細胞が存在していることが明らかとなり、これはベージュ脂肪細胞と呼ばれている。ベージュ脂肪細胞は、成人ヒト褐色脂肪組織を構成する細胞であり、エネルギー消費に大きく貢献すると考えられている。低酸素誘導因子(HIF)は、低酸素により誘導される転写因子であり、糖代謝、炎症、細胞生存等に係る因子の発現を制御している。肥満により脂肪組織が拡大すると、脂肪組織が低酸素となることが知られている。この時、脂肪細胞に HIF が発現する。我々は、HIF を脂肪細胞特異的に欠損したマウスは、肥満しても血糖コントロールが良好であることを見出した。この理由として、肥満により慢性的に脂肪組織に生じる炎症が抑制されること、肥満した HIF 脂肪細胞特異的欠損マウスにおいて、アディポネクチンの発現が上昇していること、発現上昇したアディポネクチンがインスリン分泌促進に関与していることが関係していることが考えられた。アディポネクチンは脂肪細胞から分泌されるアディポカインとして知られていることから、脂肪細胞の HIF が脂肪細胞の機能調節に重要な役割を持っていること、脂肪細胞の HIF の欠損により肥満に伴う脂肪組織の炎症発現が抑制されることから、脂肪細胞における HIF の発現は、全身の耐糖能異常やインスリン抵抗性の発現に関与していることを示唆している。

2. 研究の目的

マウスにおいて、脂肪細胞の HIF の抑制により肥満しても血糖コントロールが良好であることが明らかとなったことから、HIF が脂肪細胞の機能変化に重要な役割を果たすことが考えられる。そこで、脂肪細胞における HIF の役割について解析を行うことにした。その結果、脂肪細胞特異的 HIF 欠損マウスにおいてアディポネクチン血中濃度が高値であること、HIF 阻害剤である 3-(5'-hydroxymethyl-2'-furyl)-1-benzyl indazole (YC-1) を培養脂肪細胞に添加すると、脂肪細胞がアディポネクチンを高発現するベージュ脂肪細胞に分化することが示唆された。しかしながら、そのメカニズムについては明らかとなっていない。そこで本研究では、YC-1 により HIF の発現を抑制した場合に生じるアディポネクチン高発現型ベージュ細胞の誘導メカニズムの解析および逆に HIF を過剰発現した際に生じる脂肪細胞の変化について解析を行うことを目的とした。また、脂肪細胞の HIF を欠損したマウスにおいて脂肪組織の炎症が抑制されることが明らかとなったことから、HIF により炎症が発現されると考えられる。肥満により血中のリゾホスファチジン酸(LPA)濃度が上昇することが明らかとなっており、LPA により脂肪組織の機能異常が引き起こされることが明らかとなっている。LPA の作用と HIF の作用には類似するところが多く見られるため、LPA が HIF を制御している可能性を考えて、肥満における脂肪細胞における HIF の制御機構を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

培養脂肪細胞(3T3-L1)を用い、HIF 阻害剤である YC-1 を添加することにより、HIF の発現変化を解析すると共に、同時に発現変化する因子の探索を行う。また、HIF 活性化剤である Dimethyl oxaloylglycine (DMOG) についての作用も解析する。これら試薬の効果を、分化した脂肪細胞および分化過程にある脂肪前駆細胞に対して処理することにより、それらが HIF、アディポネクチン、UCP1 発現に及ぼす影響をウエスタンブロットにより観察した。また、YC-1、DMOG の添加により分化効率が変化したことから、脂肪の分化に関与する因子、Lipin1 および Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ (PPAR γ) の発現を解析した。さらに、マウスに高脂肪食を負荷し、肥満を誘発した際の脂肪細胞における HIF の発現調節メカニズムについて *in vivo* での解析を行った。また、肥満が生じた際に LPA の血中濃度が上昇することが明らかとなっているが、LPA の作用が HIF の作用と類似しているため、LPA による HIF の制御を検討するため、マウスに LPA を投与し、その後、脂肪組織を単離し、ウエスタンブロットおよびリアルタイム PCR により、HIF およびその標的遺伝子の発現を観察することにより解析を行った。

4. 研究成果

培養脂肪細胞の脂肪細胞への分化過程において、HIF の阻害剤である YC-1 を添加し、HIF を脂肪細胞で発現抑制すると、UCP1 の発現が上昇することが明らかとなった。これは、HIF の制御によって脂肪細胞の質および機能が変化することを示唆している。また、HIF を脂肪細胞特異的にノックアウトしたマウスにおいて、善玉アディポカインとして知られるアディポネクチンの血中濃度が上昇するが、培養脂肪細胞においても、分化誘導中の脂肪細胞に HIF 阻害剤を添加するとアディポネクチンの発現が上昇することが明らかとなった。また、HIF の抑制により脂肪細胞の分化に関わる Lipin1 や PPAR γ の発現が上昇し、脂肪細胞への分化が促進されることが関与することが示された。これらの発現上昇による、脂肪細胞の分化効率の変化がアディポネクチン産生の上昇や UCP1 の発現に関与していることが示唆された。以上のことから、HIF の制御により、脂肪細胞が、エネルギー消費が向上し、アディポネクチンを高発現する脂肪細胞

へと変化することが示唆された。逆に、脂肪細胞の分化過程において HIF を活性化すると、分化効率が極端に減少することが明らかとなった。この時、Lipin1 および PPAR γ の発現は減少していることから、HIF の発現により、分化が抑制されることが明らかとなった。また、肥満に伴う脂肪細胞の HIF の制御因子の探索を行い、LPA が脂肪の HIF を発現上昇させることを見出した。マウスに LPA を投与すると、精巣上体脂肪組織において HIF の発現上昇が観察された。また、monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)、Interleukin-6 (IL-6) といった炎症性サイトカインの発現上昇が生じること、しかし、抗炎症性サイトカインである IL-10 の発現には影響しないことも明らかとした。これらの結果は、脂肪細胞に HIF が発現すると脂肪細胞のアディポカイン産生が異常を来し、機能異常を引き起こすことを意味している。脂肪細胞からの炎症性サイトカインの発現は、脂肪組織の炎症惹起にとどまらず、全身の耐糖能異常やインスリン抵抗性の発現に関与していることが明らかとなっている。以上のことから、脂肪細胞における HIF の発現により脂肪細胞の機能異常および脂肪組織の炎症が引き起こされることが示唆された。特に、脂肪細胞の分化過程において HIF を抑制すると、脂肪細胞の機能が UCP1 を発現したエネルギー消費型のベージュ細胞へと変化すること、HIF の過剰な発現により脂肪細胞の分化が抑制されることが示唆された。これらのことから、脂肪細胞の HIF を抑制することにより、肥満から糖尿病への進展を抑制することができる可能性が示唆された。肥満から糖尿病への進展に重要な役割を持つこと、HIF の抑制により脂肪細胞が抗肥満型の細胞に変化する可能性が示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

Izawa-Ishizawa Y, Imanishi M, Zamami Y, Toya H, Nagao T, Morishita M, Tsuneyama K, Horinouchi Y, Kihira Y, Takechi K, Ikeda Y, Tsuchiya K, Yoshizumi M, Tamaki T, Ishizawa K.

Development of a novel aortic dissection mouse model and evaluation of drug efficacy using in-vivo assays and database analyses.

J Hypertens. 査読あり, 37(1) 2019 73-83.

doi: 10.1097/HJH.0000000000001898.

Oshima K, Ikeda Y, Horinouchi Y, Watanabe H, Hamano H, Kihira Y, Kishi S, Izawa-Ishizawa Y, Miyamoto L, Hirayama T, Nagasawa H, Ishizawa K, Tsuchiya K, Tamaki T. Iron suppresses erythropoietin expression via oxidative stress-dependent hypoxia-inducible factor-2 alpha inactivation.

Lab Invest. 査読あり, 97(5), 2017, 555-566.

doi: 10.1038/labinvest.2017.11.

Ikeda Y, Imao M, Satoh A, Watanabe H, Hamano H, Horinouchi Y, Izawa-Ishizawa Y, Kihira Y, Miyamoto L, Ishizawa K, Tsuchiya K, Tamaki T.

Iron-induced skeletal muscle atrophy involves an Akt-forkhead box O3-E3 ubiquitin ligase-dependent pathway.

J Trace Elem Med Biol. 査読あり, 35, 2016, 66-76.

doi: 10.1016/j.jtemb.2016.01.011.

富田 修平、木平 孝高、玉置 俊晃
低酸素と生活習慣病

Inflammation and immunity (炎症と免疫), 査読なし, 24, 2016, 26-31.

〔学会発表〕(計 8 件)

宮本 佳織、山本 芽生、岩川 まどか、藤村 よしの、木平 孝高、佐藤 英治
内臓脂肪においてリゾホスファチジン酸は低酸素誘導因子の発現を上昇させる
日本薬学会第 139 年会, 2019

佐藤 友美、藤村 よしの、木平 孝高、佐藤 英治
高脂肪食負荷により肥満を誘発した低酸素誘導因子-1 ヘテロ欠損マウスの体重および血糖値推移
日本薬学会第 139 年会, 2019

山本 梨乃、武田 佳士、藤村 よしの、木平 孝高、富田 修平、佐藤 英治

腎虚血再灌流障害における尿細管細胞アポトーシスに対する CHAC1 の役割
日本薬学会第 139 年会, 2019

Kihira Y, Yamaguchi T, Fujimura Y, Sato E, Tamaki T, Tomita S.
Glutathione Specific Gamma-Glutamylcyclotransferase 1, CHAC1, regulates Bcl-2
expression in acute kidney injury.
第 92 回薬理学会年会, 2019

武田 佳士、山本 梨乃、高木 明日香、木平 孝高、藤村 よしの、佐藤 英治
腎虚血再灌流障害時に尿細管細胞において低酸素誘導因子が paired box gene 2 の発現を誘導
する
日本薬学会第 138 年会, 2018

山本 芽生、藤原 美穂、藤村 よしの、木平 孝高、佐藤 英治
脂肪細胞におけるリゾホスファチジン酸による低酸素誘導因子の調節
日本薬学会第 138 年会, 2018

池田 政聡、木平 孝高、藤村 よしの、佐藤 英治
ヒト腎尿細管細胞における CHAC1 制御機構の解明
第 56 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会, 2017

藤村 よしの、木平 孝高、吉富 博則、佐藤 英治
YC-1 は尿細管上皮細胞においてグルタチオン分解酵素 CHAC1 の発現を誘導する
日本薬学会第 137 年会, 2017

〔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

福山大学薬学部の教員紹介

<http://www.fukuyama-u.ac.jp/pharmacy/facultyMember/>

6. 研究組織

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。