

令和元年6月27日現在

機関番号：82654

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09791

研究課題名(和文) 組織特異的プリン代謝状態と生活習慣病の関連の解明

研究課題名(英文) Related elucidation of the tissue-specific purine metabolism state and lifestyle-related disease

研究代表者

榎山 暁史 (Kushiyama, Akifumi)

公益財団法人朝日生命成人病研究所・その他部局等・教授(移行)

研究者番号：30435820

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：5種の組織特異的XORKOマウスを作出し、各臓器のXOR活性および血漿におけるXOR活性を検討したところ、骨髄・脾臓で顕著な活性低下、血管内皮などの諸臓器での活性低下、肝臓のみほぼ完璧な活性低下、白色、褐色脂肪での中等度活性低下、小腸で顕著な活性低下を示すマウスを得た。血漿XOR活性は骨髄、肝臓の活性低下時に顕著に低下しており、小腸での活性低下でもやや低下傾向であった。そして、骨髄でのXOR活性低下を生じたマウスでは耐糖能に優れ、褐色脂肪重量の低下がみられたが、この脂質燃焼性の変化はUCP-1非依存性であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

キサンチンオキシダーゼ阻害がインスリン抵抗性・慢性炎症・脂肪蓄積に直接的に作用することが示唆される結果となった。尿酸値と臓器障害の関係は長年研究されていて不明とされていた機序の解明の端緒となるであろうし、尿酸値よりも尿酸産生に着目すべきという医療行政上のインパクトがもたらされたと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Five types of tissue-specific XORKO mice were generated and XOR activities in each organ and in plasma were examined. XOR activity was respectively reduced in bone marrow and spleen, in various organs such as vascular endothelium, in liver, in white and brown fat, and in small intestine. The plasma XOR activity was significantly reduced when bone marrow or liver XOR activities were reduced, and tended to be slightly reduced when XOR activity in small intestine was reduced.

Mice with decreased XOR activity in bone marrow were excellent in glucose tolerance and showed a decrease in brown fat weight, but this lipid burning was considered to be UCP-1 independent.

研究分野：代謝学

キーワード：尿酸代謝 核酸代謝 生活習慣病 キサンチンオキシダーゼ

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

1. 研究開始当初の背景

現代人の多くが罹患する糖尿病や非アルコール性脂肪肝炎(NASH)、CKD、動脈硬化症といった生活習慣病において、慢性炎症が関与すると言われている。肥満と高尿酸血症は共に日本人において増加している病態であるが、我々はこれまで、キサンチンオキシダーゼ(XOR)の生活習慣病への関与を発見し、機序について検討してきた。動脈硬化巣マクロファージでは XOR が存在しマクロファージ泡沫化と動脈硬化進展に関与しており、さらに昨年度までの研究により、主な尿酸産生源である肝臓以外での XOR の働きが重要との仮説を得た。

2. 研究の目的

本申請では、各細胞における XOR の働きについて、特にメタボリック症候群及び NASH の病態との関わりを検討する。XOR で介入すべき細胞を明らかにし、新たな生活習慣病治療のための端緒となることが期待される。

3. 研究の方法

5種の組織特異的 XORKO マウスを作出し、各臓器の XOR 活性および血漿における XOR 活性を検討した。

その結果をもとに、まず通常食下での糖負荷試験、インスリン負荷試験を実施し、腹腔インスリンによるインスリン標的臓器の Akt リン酸化や遺伝子発現および臓器重量や組成を評価した。

4. 研究成果

5種の組織特異的 XORKO マウス、すなわちマクロファージ特異的 XORKO マウス(M XORKO)、血管内皮特異的 XORKO マウス(VEXORKO)、肝細胞特異的 XORKO マウス(LXORKO)、脂肪特異的 XORKO マウス(FXORKO)、小腸上皮特異的 XORKO マウス(IXORKO)を作出できた。各臓器の XOR 活性および血漿における XOR 活性を検討したところ、M XORKO は骨髄・脾臓で顕著な活性低下、VEXORKO マウスでは諸臓器での活性低下、LXORKO は肝臓のみほぼ完璧な活性低下、FXORKO は白色、褐色脂肪での中等度活性低下、IXORKO では小腸で顕著な活性低下を得た。血漿 XORKO 活性は M XORKO、LXORKO で顕著に低下しており、IXORKO でもやや低下傾向であった。

これらの結果をもとに、まず通常食下での糖負荷試験、インスリン負荷試験を実施し、腹腔インスリンによるインスリン標的臓器の Akt リン酸化や遺伝子発現を評価したところ、M XORKO、VEXORKO でのみ XORKO による効果を認め、耐糖能に優れていた。IXORKO ではわずかに耐糖能が改善しているようであった。LXORKO、VEXORKO、FXORKO で肝・筋・脂肪で XORKO によってインスリン誘導性 Akt リン酸化の亢進を認めており、XORKO の欠損によって生じた IXORKO では、Akt リン酸化の亢進は明らかではなかったが、再検証を要する。臓器重量変化については、脂肪蓄積の差異によると考えられ、OxyMax による検討では脂肪の燃焼に関連すると考えられたが、この脂質燃焼の変化は UCP-1 非依存性であると考えられた。

キサンチンオキシダーゼ阻害がインスリン抵抗性・慢性炎症・脂肪蓄積に直接的に作用することが示唆される結果となった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計17件)

1. Kamatani N, Kushiyama A, Toyo-Oka L, Toyo-Oka T. Treatment of two mitochondrial disease patients with a combination of febuxostat and inosine that enhances cellular ATP. *J Hum Genet.* 2019 Apr;64(4):351-353. doi:10.1038/s10038-018-0558-0. Epub 2019 Jan 10. PubMed PMID: 30631120.
2. Inoue MK, Yamamoto T, Nakatsu Y, Ueda K, Inoue Y, Matsunaga Y, Sakoda H, Fujishiro M, Ono H, Morii K, Sasaki K, Masaki T, Suzuki Y, Asano T, Kushiyama A. The Xanthine Oxidase Inhibitor Febuxostat Suppresses the Progression of IgA Nephropathy, Possibly via Its Anti-Inflammatory and Anti-Fibrotic Effects in the gddY Mouse Model. *Int J Mol Sci.* 2018 Dec 10;19(12). pii: E3967. doi:10.3390/ijms19123967. PubMed PMID: 30544662; PubMed Central PMCID: PMC6320819. 59.
3. Tanaka T, Sakai K, Kushiyama A, Hara S, Hattori M, Ohashi Y, Muramatsu M, Kawamura T, Shishido S, Aikawa A. Serum uric acid is an independent predictor of new-onset diabetes after living-donor kidney transplantation *Renal Replacement Therapy* 2018;4(28)

4. Nakatsu Y, Matsunaga Y, Ueda K, Yamamotoya T, Inoue Y, Inoue MK, Mizuno Y, KushiyaA, Ono H, Fujishiro M, Ito H, Okabe T, Asano T. Development of Pin1 inhibitors and their potential as therapeutic agents. *Curr Med Chem*. 2018 Nov 5. doi: 10.2174/0929867325666181105120911. [Epub ahead of print] PubMed PMID:30394205.
5. Okubo H, KushiyaA, Nakatsu Y, Yamamotoya T, Matsunaga Y, Fujishiro M, Sakoda H, Ohno H, Yoneda M, Asano T. Roles of Gut-Derived Secretory Factors in the Pathogenesis of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Their Possible Clinical Applications. *Int J Mol Sci*. 2018 Oct 8;19(10). pii: E3064. doi:10.3390/ijms19103064. Review. PubMed PMID: 30297626; PubMed Central PMCID:PMC6213237.
6. Yamazaki H, KushiyaA, Sakoda H, Fujishiro M, Yamamotoya T, Nakatsu Y, Kikuchi T, Kaneko S, Tanaka H, Asano T. Protective Effect of Sex Hormone-Binding Globulin against Metabolic Syndrome: In Vitro Evidence Showing Anti-Inflammatory and Lipolytic Effects on Adipocytes and Macrophages. *Mediators Inflamm*. 2018 Jun 25;2018:3062319. doi: 10.1155/2018/3062319. eCollection 2018. PubMed PMID:30046278; PubMed Central PMCID: PMC6036814.
7. Fujishiro M, KushiyaA, Yamazaki H, Kaneko S, Koketsu Y, Yamamotoya T, Kikuchi T, Sakoda H, Suzuki R, Kadowaki T. Gastrointestinal symptom prevalence depends on disease duration and gastrointestinal region in type 2 diabetes mellitus. *World J Gastroenterol*. 2017 Sep 28;23(36):6694-6704. doi:10.3748/wjg.v23.i36.6694. PubMed PMID: 29085214; PubMed Central PMCID:PMC5643290.
8. Yamamotoya T, Nakatsu Y, KushiyaA, Matsunaga Y, Ueda K, Inoue Y, Inoue MK, Sakoda H, Fujishiro M, Ono H, Kiyonari H, Ishihara H, Asano T. Trk-fused gene(TFG) regulates pancreatic cell mass and insulin secretory activity. *Sci Rep*.2017 Oct 12;7(1):13026. doi: 10.1038/s41598-017-13432-x. PubMed PMID: 29026155;PubMed Central PMCID: PMC5638802.
9. Okubo H, Nakatsu Y, KushiyaA, Yamamotoya T, Matsunaga Y, Inoue MK, Fujishiro M, Sakoda H, Ohno H, Yoneda M, Ono H, Asano T. Gut Microbiota as a Therapeutic Target for Metabolic Disorders. *Curr Med Chem*. 2018;25(9):984-1001. doi: 10.2174/0929867324666171009121702. Review. PubMed PMID: 28990516.
10. Nakatsu Y, Kokubo H, Bumdelger B, Yoshizumi M, Yamamotoya T, Matsunaga Y, Ueda K, Inoue Y, Inoue MK, Fujishiro M, KushiyaA, Ono H, Sakoda H, Asano T. The SGLT2 Inhibitor Luseogliflozin Rapidly Normalizes Aortic mRNA Levels of Inflammation-Related but Not Lipid-Metabolism-Related Genes and Suppresses Atherosclerosis in Diabetic ApoE KO Mice. *Int J Mol Sci*. 2017 Aug 4;18(8). pii: E1704. doi: 10.3390/ijms18081704. PubMed PMID: 28777298; PubMed Central PMCID:PMC5578094.
11. Nakatsu Y, Mori K, Matsunaga Y, Yamamotoya T, Ueda K, Inoue Y, Mitsuzaki-Miyoshi K, Sakoda H, Fujishiro M, Yamaguchi S, KushiyaA, Ono H, Ishihara H, Asano T. The prolyl isomerase Pin1 increases -cell proliferation and enhances insulin secretion. *J Biol Chem*. 2017 Jul 14;292(28):11886-11895. doi:10.1074/jbc.M117.780726. Epub 2017 May 31. PubMed PMID: 28566287; PubMed Central PMCID: PMC5512081.
12. Pang Z, KushiyaA, Sun J, Kikuchi T, Yamazaki H, Iwamoto Y, Koriyama H, Yoshida S, Shimamura M, Higuchi M, Kawano T, Takami Y, Rakugi H, Morishita R, Nakagami H. Glial fibrillary acidic protein (GFAP) is a novel biomarker for the prediction of autoimmune diabetes. *FASEB J*. 2017 Sep;31(9):4053-4063. doi:10.1096/fj.201700110R. Epub 2017 May 25. PubMed PMID: 28546444.
13. Yamamotoya T, Nakatsu Y, Matsunaga Y, Fukushima T, Yamazaki H, Kaneko S, Fujishiro M, Kikuchi T, KushiyaA, Tokunaga F, Asano T, Sakoda H. Reduced SHARPIN and LUBAC Formation May Contribute to CCl₄- or Acetaminophen-Induced Liver Cirrhosis in Mice. *Int J Mol Sci*. 2017 Feb 4;18(2). pii: E326. doi:10.3390/ijms18020326. PubMed PMID: 28165393; PubMed Central PMCID: PMC5343862.
14. KushiyaA, Nakatsu Y, Matsunaga Y, Yamamotoya T, Mori K, Ueda K, Inoue Y, Sakoda H, Fujishiro M, Ono H, Asano T. Role of Uric Acid Metabolism-Related Inflammation in the Pathogenesis of Metabolic Syndrome Components Such as Atherosclerosis and

Nonalcoholic Steatohepatitis. *Mediators Inflamm.* 2016;2016:8603164. doi: 10.1155/2016/8603164. Epub 2016 Dec 14. Review. PubMed PMID: 28070145; PubMed Central PMCID: PMC5192336.

15. Sano T, Nagayasu S, Suzuki S, Iwashita M, Yamashita A, Shinjo T, Sanui T, Kushiyaama A, Kanematsu T, Asano T, Nishimura F. Epicatechin downregulates adipose tissue CCL19 expression and thereby ameliorates diet-induced obesity and insulin resistance. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2017 Mar;27(3):249-259. doi:10.1016/j.numecd.2016.11.008. Epub 2016 Nov 23. PubMed PMID: 28062181.
16. Nakatsu Y, Matsunaga Y, Yamamotoya T, Ueda K, Inoue Y, Mori K, Sakoda H, Fujishiro M, Ono H, Kushiyaama A, Asano T. Physiological and Pathogenic Roles of Prolyl Isomerase Pin1 in Metabolic Regulations via Multiple Signal Transduction Pathway Modulations. *Int J Mol Sci.* 2016 Sep 7;17(9). pii: E1495. doi:10.3390/ijms17091495. Review. PubMed PMID: 27618008; PubMed Central PMCID:PMC5037772.
17. Kushiyaama A, Kikuchi T, Tanaka K, Tahara T, Takao T, Onishi Y, Yoshida Y, Kawazu S, Iwamoto Y. Prediction of the effect on antihyperglycaemic action of sitagliptin by plasma active form glucagon-like peptide-1. *World J Diabetes.* 2016 Jun 10;7(11):230-8. doi: 10.4239/wjd.v7.i11.230. Epub 2016 Jun 11. PubMed PMID:27326345; PubMed Central PMCID: PMC4909424.

〔学会発表〕(計25件)

1. 『尿酸と尿酸産生の血管疾患マーカーとしての役割』 榎山暁史 第83回日本循環器学会学術集会(招待講演)2019年3月29-31日 パシフィコ横浜(神奈川)
2. 『糖尿病の病態における尿酸代謝の役割』 榎山暁史 第52回日本痛風・核酸代謝学会総会(招待講演)2019年2月14-15日 帝京大学 板橋キャンパス(東京)
3. 『ペリサイト障害モデルにおける血管透過性に対するキサンチンオキシダーゼの役割』 榎山暁史、菊池貴子、植村明嘉、福嶋葉子、榎山櫻、浅野知一郎 CVWM2018 2018年12月7-8日 東京コンベンションホール(東京)
4. 『Xanthine Oxidoreductaseの組織特異的発現による代謝制御』 榎山暁史、菊池貴子、村瀬貴代、世良康如、藤城緑、山本屋武、中津祐介、中村敬志、本田浩章、春日雅人、浅野知一郎 第41回日本分子生物学会年会 2018年11月28-30日 パシフィコ横浜(神奈川)
5. “Role of uric acid metabolism in pathogenesis of diabetes mellitus” Akifumi Kushiyaama 3rd EAGER meeting 2018年9月9日 和逸飯店・高雄中山館(台湾)
6. “Role of xanthine oxidoreductase from mesenchymal cells in retinal inflammation after pericyte breakdown” AKIFUMI KUSHIYAMA, TAKAKO KIKUCHI, HIROKI YAMAZAKI, TAKESHI YAMAMOTOYA, HIDEYUKI SAKODA, MIDORI FUJISHIRO, YUSUKE NAKATSU, AKIYOSHI UEMURA, TAKASHI SHIRAKURA, TOMOICHIRO ASANO, YASUHIKO IWAMOTO ADA American Diabetes Association 78th Scientific Sessions June 22 - 26, 2018, Orlando, Florida
7. 『マクロファージ由来キサンチン酸化還元酵素の代謝・熱産生への関与』 榎山 暁史、菊池 貴子、藤城 緑、迫田 秀之、中村 敬志、村瀬 貴代、松永 泰花、山本屋 武、中津 祐介、浅野 知一郎、岩本 安彦 第61回日本糖尿病学会年次学術集会 2018年5月24-26日 東京国際会議場(東京)
8. 2型糖尿病を対象としたキサンチン酸化還元酵素の血管合併症発症および進展に対する影響に関する探索研究 藤城 緑、榎山 暁史、山口 賢、渡邊 健太郎、江頭 富士子、岡本 真由美、村瀬 貴代、中村 敬志、山本屋 武、中津 祐介、浅野 知一郎、石原 寿光 第61回日本糖尿病学会年次学術集会 2018年5月24-26日 東京国際会議場(東京)
9. 『ピグアナイド系薬剤服用患者のアドヒアランスに関する要因』 谷口 洸亮、榎山 暁史、末永みどり、庄野あい子、菊池 貴子、岩本 安彦、赤沢 学 第61回日本糖尿病学会年次

学術集会 2018年5月24-26日 東京国際会議場(東京)

10. 『妊娠中毒症を伴う妊娠および出産と2型糖尿病発症の関連』 末永 みどり, 櫛山 暁史, 庄野 あい子, 赤沢 学 日本薬学会 第138年会 2018年3月25-28日 石川県立音楽堂他(石川)
11. 『ペリサイト障害モデルにおける網膜浮腫に対するキサンチンオキシダーゼ阻害の効果』 櫛山 暁史, 菊池 貴子, 植村 明嘉, 福嶋 葉子, 櫛山 櫻, 岩本 安彦, 浅野 知一郎 第25回日本血管生物医学学会学術集会(CVMW2017) 2017年12月8-10日 大阪国際交流センター(大阪)
12. “Molecular mechanism of retinal edema by xanthine oxidase inhibitor” 櫛山 暁史, 菊池 貴子, 植村 明嘉, 福嶋 葉子, 櫛山 櫻, 岩本 安彦, 浅野 知一郎 2017年度生命科学系学会合同年次大会(ConBio2017) 2017年12月6-9日 神戸ポートアイランド(兵庫)
13. 『安全かつ効果的に結果にコミットできる減量方法の確立を目指して』 櫛山 暁史 第38回日本肥満学会 2017年10月7-8日 大阪国際会議場(大阪)
14. “Inhibition of diabetic retinopathy by xanthine oxidase inhibitor” 櫛山 暁史, 菊池 貴子, 植村 明嘉, 福嶋 葉子, 櫛山 櫻, 岩本 安彦, 浅野 知一郎 Molecular Cardiovascular Metabolic Conference 2017年9月1-2日 神戸ペイシェラトンホテル(兵庫)
15. 『組織特異的キサンチンオキシダーゼによるインスリン感受性と慢性炎症の制御』 櫛山 暁史, 菊池 貴子, 植村 明嘉, 福嶋 葉子, 櫛山 櫻, 岩本 安彦, 浅野 知一郎 第60回日本糖尿病学会年次学術集会 2017年5月18-20日 名古屋国際会議場(愛知)
16. 『糖尿病専門医院における患者背景のデータベース構築』 米川拓渡, 沖村悠希, 梶山里奈, 小泉聖人, 仙石悠紀子, 宮下紗季, 森田修司, 金井紀仁, 櫛山暁史, 山崎広貴, 菊池貴子, 赤沢学 日本薬学会第137年会 2017年3月24-27日 仙台国際センター他(宮城)
17. 『糖尿病専門医による2型糖尿病患者の処方変更の実態』 仙石 悠紀子, 米川 拓渡, 櫛山 暁史, 山崎 広貴, 菊池 貴子, 庄野 あい子, 金井 紀仁, 赤沢 学 日本薬学会第137年会 2017年3月24-27日 仙台国際センター他(宮城)
18. “Inhibition of endothelial sprouting by the xanthine oxidase inhibitor” Akifumi Kushiyama, Takako Kikuchi, Hiroki Yamazaki, Sakura Kushiyama, Yasuhiko Iwamoto, Tomoichiro Asano 第24回日本血管生物医学学会学術集会 2016年12月9日 長崎ブリックホール(長崎)
19. 『血管新生におけるキサンチンオキシダーゼ阻害の血管内皮細胞への影響』 “Effect of xanthine oxidase inhibitor on endothelial cells during angiogenesis” 櫛山暁史、菊池貴子、山崎広貴、福嶋葉子、植村明嘉、西山功一、有馬勇一郎、櫛山櫻、岩本安彦、浅野知一郎 第39回日本分子生物学会年会 2016年11月30日 パシフィコ横浜(神奈川)
20. “Anti-angiogenic effect of xanthine oxidase inhibition on endothelial cells” A. Kushiyama, T. Kikuchi, H. Yamazaki, Y. Fukushima, A. Uemura, Y. Arima, K. Nishiyama, S. Kushiyama, Y. Iwamoto, T. Asano 19th International Vascular Biology Meeting(国際血管生物学会:IVBM2016) Oct.30 - Nov.3, 2016 Boston, MA, USA:
21. 『組織特異的キサンチン酸化還元酵素のインスリン抵抗性に果たす役割』 櫛山暁史、菊池貴子、山崎広貴、藤田政子、嶋崎喜代子、櫛山櫻、浅野知一郎、西山功一、有馬勇一郎、栗原裕基 MCCII 2016年9月2-3日 東京ドームホテル(東京)
22. 『2型糖尿病患者男女における骨密度及び海綿骨スコアの変化』 櫛山暁史、山崎広貴、藤田政子、菊池貴子、田原たづ、大西由希子、高尾淑子、吉田洋子、岩本安彦、板橋明 第18回 骨粗しょう症学会 2016年10月6日 仙台 勝山館(宮城)

23. 『糖尿病患者に対する MCG 解析』 櫛山暁史 第 57 回 日本人間ドック学会学術大会 2016 年 7 月 28 日 まつもと市民芸術館(長野)
24. 『医療機関での取り組み - 初診時療養指導と受診中断者への働きかけによる受診中断対策』吉田洋子 櫛山暁史 岩本安彦 第 59 回 日本糖尿病学会年次学術集会 2016 年 05 月 20 日 国立京都国際会館(京都)
25. 『肝外キサントキシダーゼのインスリン抵抗性への関与』 櫛山暁史、菊池貴子、迫田秀之、藤城緑、山崎広貴、山本屋武、大久保博史、中津祐介、河津捷二、岩本安彦、浅野知一郎 第 59 回 日本糖尿病学会年次学術集会 2016 年 05 月 21 日 国立京都国際会館(京都)

〔図書〕(計 1 件)

櫛山 暁史 他 『糖尿病の療育指導 Q&A vol.2』医歯薬出版 2019 年

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

該当なし

取得状況(計 0 件)

該当なし

〔その他〕

ホームページ等

朝日生命成人病研究所 糖尿病代謝科 分子病態学班 研究内容

<http://www.asahi-life.or.jp/laboratory/biomolecular.html>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

該当なし

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：迫田 秀之

ローマ字氏名：SAKODA, Hideyuki

宮崎大学 第三内科・講師

研究協力者氏名：浅野 知一郎

ローマ字氏名：ASANO, Tomoichiro

広島大学 大学院医歯薬保健学研究院・教授

研究協力者氏名：栗原 裕基

ローマ字氏名：KURIHARA, Hiroki

東京大学 大学院・医学系研究科・教授

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。