

平成 30 年 5 月 29 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19536

研究課題名(和文) 脂肪細胞酸化還元状態の肥満病態における意義解明

研究課題名(英文) Role of adipocyte oxidative stress in obesity

研究代表者

奥野 陽亮 (Okuno, Yosuke)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：10534513

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：皮下脂肪組織特異的に酸化ストレスを除去したマウスを作成し、高脂肪食を負荷した所、皮下脂肪組織の増大が認められ、腸間膜脂肪組織の減少や脂肪肝の改善、インスリン抵抗性の改善などが認められた。

脂肪組織特異的に酸化ストレスを増強したマウスに高脂肪食を負荷した所、脂肪組織の減少が認められ、脂肪肝の増悪、褐色脂肪組織の白色化、インスリン抵抗性の増悪等が認められた。

培養脂肪細胞に活性酸素を処理すると、脂質合成遺伝子やSREBP1転写活性の発現減少が認められた。

研究成果の概要(英文)：Adipocyte-specific elimination of oxidative stress resulted in healthy expansion of subcutaneous adipose tissue, reduction of mesenteric adipose tissue, improvement of liver steatosis and insulin resistance under high-fat diet.

Adipocyte-specific augmentation of oxidative stress resulted in reduction of white adipose tissues, acceleration of liver steatosis, whitening of brown adipose tissue and worsened insulin resistance.

Treatment of reactive oxygen species decreased gene expression of lipogenic genes and transcriptional activity of SREBP1.

研究分野：糖尿病

キーワード：酸化ストレス 脂肪組織 糖尿病

1. 研究開始当初の背景

肥満は、脂肪組織におけるインスリン感受性低下、免疫細胞浸潤、アディポネクチン発現低下等をきたし、インスリン抵抗性の要因の一つであると考えられているが、その上流因子は未だ明らかではない。

これまで当研究室は、肥満脂肪組織において、酸化ストレス産生酵素の発現亢進、抗酸化酵素の発現低下が起こる事、これらの変化により脂肪組織酸化ストレスが亢進する事を見出し、Fat ROS (脂肪組織酸化ストレス) 概念を世界に先駆けて提唱した (Furukawa S et al., J Clin Invest., 2004)。

これまで、Fat ROS を個体レベルで増減させるマウスは作成されておらず、Fat ROS の肥満糖尿病における病態学的意義は不明であった。そこで申請者は、抗酸化酵素 Catalase 及び SOD1 を脂肪細胞特異的 aP2 プロモーター制御下に共発現したマウスを作成した。本マウスの脂肪組織では、Catalase 活性は約2倍に、SOD 活性は約7倍に増加し、酸化ストレスマーカー 8-isoprostane が減少した事から、本マウスは Fat ROS 低減マウスであると考えられた。Fat ROS 低減マウスは、高脂肪高シヨ糖食負荷において、体重は野生型と差を認めなかったが、皮下脂肪組織は肥大し、逆に腸間膜脂肪組織と肝臓の肥大は抑制された。皮下脂肪組織では細胞あたりの中性脂肪含量が増大し、肝臓では中性脂肪及びグリコーゲン含量が低下していた。また、野生型に比べインスリン抵抗性が改善していた。皮下脂肪組織では、脂質合成系遺伝子が発現誘導され、de novo lipogenesis が亢進していると考えられた。

近年、脂肪組織の de novo lipogenesis や、beneficial fat expansion がインスリン抵抗性を始めた肥満糖尿病病態を改善する事が相次いで報告されている事から、Fat ROS を低減させる事により、皮下脂肪における de novo lipogenesis が亢進し、beneficial fat expansion を促進する事で、腸間膜脂肪組織や肝臓に対する代謝負荷が軽減し、インスリン抵抗性が改善する可能性が考えられる。

当研究室ではまた、肥満脂肪組織において抗酸化物質グルタチオンが増加している事を見出し、部分的な還元ストレスの存在を示唆してきた (Kobayashi H et al., Am J Physiol Endocrinol Metab., 2009)。実際、申請者は、3T3-L1 脂肪細胞にグルタチオン合成酵素 Gclc 阻害剤 BSO を処理し細胞内グルタチオンを枯渇させると、インスリンシグナルが亢進する事、逆に Gclc を TetON システムにより Doxycycline 誘導性に過剰発現させ、グルタチオンを増加させると、インスリンシグナルが低下する事を見出し、還元ストレスはインスリンシグナルを抑制する事と考えられた。

2. 研究の目的

(1) Fat ROS 除去マウスにおいて認められた脂肪組織肥大の組織学的特徴を明らかにする。

(2) Fat ROS 低下マウスにおいて、脂質合成関連遺伝子が誘導されている理由を明らかにする。

(3) 脂肪細胞特異的グルタチオン除去マウスの、高脂肪食下における表現型を明らかにする。

3. 研究の方法

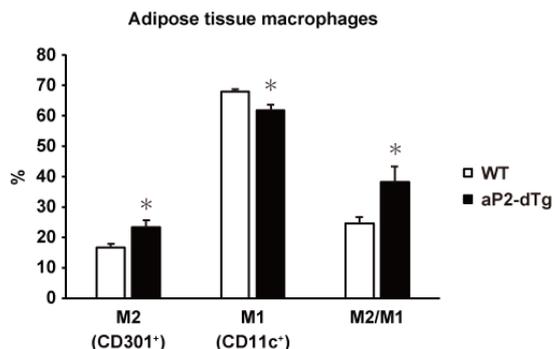
(1) Fat ROS 除去マウスの脂肪組織マクロファージを FACS にて解析する。また、脂肪組織線維化を、PicroSirius 染色にて評価する。

(2) 3T3-L1 脂肪細胞に酸化ストレスを負荷し、脂質合成酵素の発現変動及びその制御機構を明らかにする。

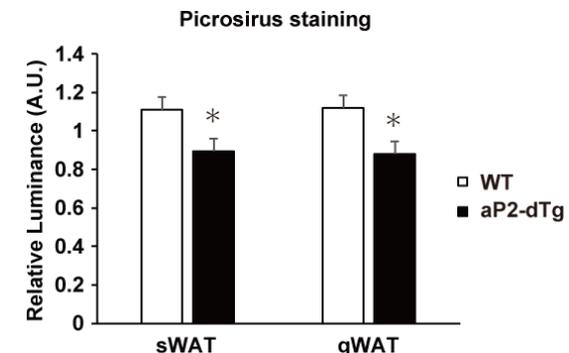
(3) 脂肪細胞特異的グルタチオン除去マウスに高脂肪食を負荷し、代謝パラメーターを評価する。

4. 研究成果

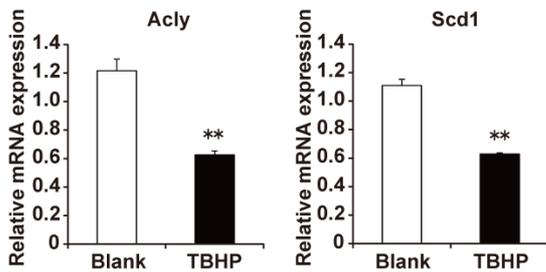
(1) 高脂肪食負荷した Fat ROS 除去マウスの脂肪細胞マクロファージは、M2 優位であり、炎症の改善が示唆された。



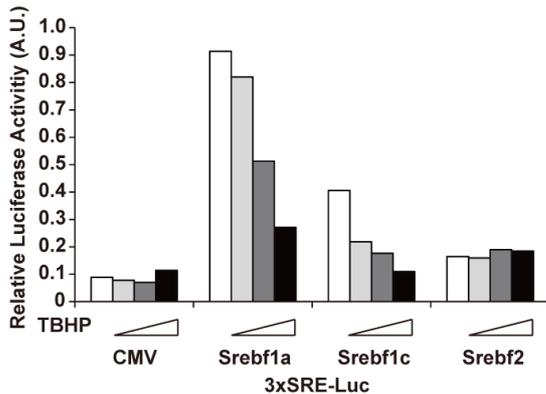
また、PicroSirius 染色において、線維化の改善が認められた。



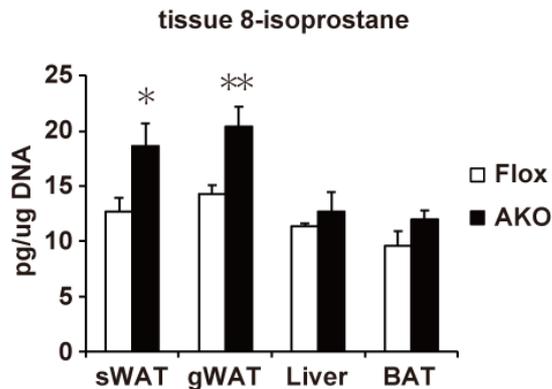
(2) 3T3-L1 脂肪細胞に活性酸素である TBHP を処理すると、脂質合成関連遺伝子である Scd1 や Acly 等の発現は低下した。



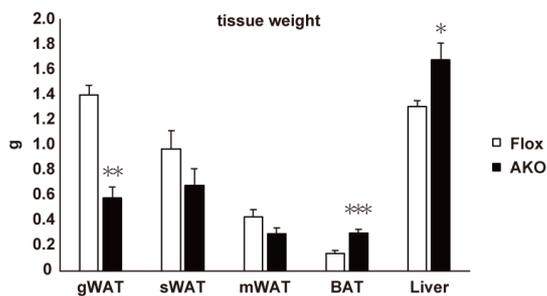
次に、脂質合成関連遺伝子の主要調節転写因子である SREBP、ChREBP と酸化ストレスの関連を検討した所、TBHP は SREBP1 の転写活性を抑制した。



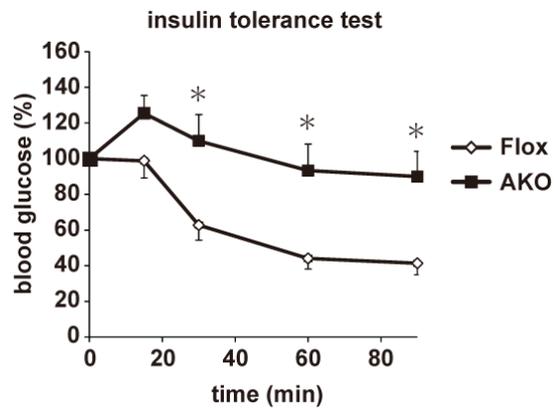
(3) 脂肪細胞特異的グルタチオン除去マウスの組織 8-isoprostane は増加しており、Fat ROS は増加していると考えられた。



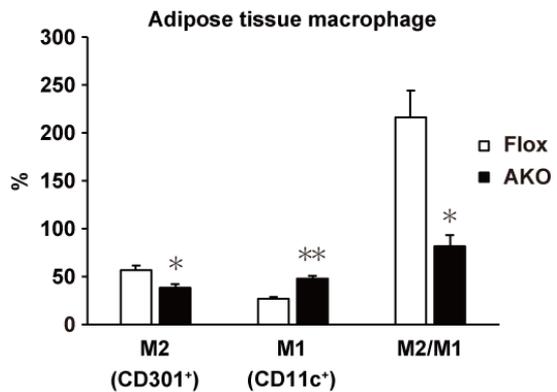
組織重量を評価した所、脂肪組織重量は減少し、肝重量や褐色脂肪組織重量は増加した。



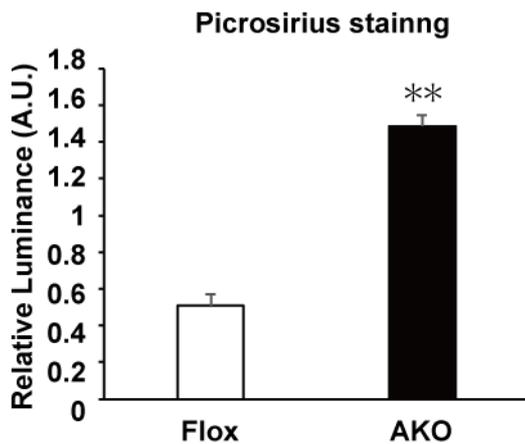
インスリン抵抗性試験を行った所、インスリン抵抗性は増悪した。



脂肪細胞マクロファージは M1 優位であり、炎症の増悪が考えられた。



PicroSirius 染色にて、線維化の亢進が認められた。



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1件)

Okuno Y, Fukuhara A, Hashimoto E, Kobayashi H, Kobayashi S, Otsuki M, Shimomura I. Oxidative Stress Inhibits Healthy Adipose Expansion Through Suppression of SREBF1-Mediated Lipogenic Pathway. *Diabetes*. 2018. Epub ahead of print.

[学会発表](計5件)

奥野陽亮。脂肪細胞酸化ストレスは adipose healthy expansion を抑制する。第

38 回日本肥満学会。2017 年。大阪。

奥野陽亮。脂肪細胞酸化ストレスは de novo lipogenesis を介して異所性脂肪蓄積・インスリン感受性を調節する。第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会。2017 年。愛知。

奥野陽亮。脂肪細胞酸化ストレスは脂質合成抑制を介してインスリン抵抗性を増悪させる。第 37 回日本肥満学会。2016 年。東京。

奥野陽亮。Adipose oxidative stress augments insulin resistance through suppression of de novo lipogenesis。第 21 回アディポサイエンス・シンポジウム。2016 年。大阪。

奥野陽亮。脂肪細胞酸化ストレスの除去は、脂質合成及び beneficial adipose expansion を誘導し、インスリン抵抗性を改善する。第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会。2016 年。京都。

〔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 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

奥野 陽亮 (OKUNO, Yosuke)
大阪大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号：10534513

(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

()