

令和元年6月7日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16149

研究課題名(和文)メタボリックシンドロームにおけるmiR-342の機能解析

研究課題名(英文)Functional role of miR-342 in metabolic syndrome

研究代表者

樋口 千草(Higuchi, Chigusa)

岡山大学・保健管理センター・助教

研究者番号：70794345

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：C57BL6マウスを高脂肪高蔗糖(HFHS)食と通常食に分け、脂肪組織、肝臓、血清からRNAシーケンシングを行った所、HFHS食群の脂肪組織、肝臓でmiR-342の発現上昇を認めた。miR-342のノックアウトマウスを作成し、肥満および糖代謝に及ぼす影響を検討した。miR-342<sup>-/-</sup>をHFHS食で飼育し、体重、糖負荷テスト、インスリン負荷テストでmiR-342<sup>+/+</sup>と比較検討した。miR-342<sup>-/-</sup>はmiR-342<sup>+/+</sup>と比較し、体重は有意差をもって低下し、血糖値が低下し、インスリン感受性の改善が認められた。miR-342はメタボリックシンドロームの新たな治療ターゲットとなると考えられる

研究成果の学術的意義や社会的意義

miRNAは疾患のバイオマーカーとして、さらには治療ターゲットとして注目されており、疾患の病態特異的なmiRNAの同定が求められている。今回メタボリックシンドロームの病態形成に関連するmiR342を同定したことは病態解明という点から学術的意義があり、さらには疾患の治療ターゲットの候補として社会的意義もあると考えられる。

研究成果の概要(英文)：C57BL6/J mice were subjected to high fat-high sucrose (HFHS) and standard chow (STD), and total RNAs isolated from visceral adipose tissues, liver and sera. Small RNA library was subjected to Illumina sequencing. MiR-342 was identified by its up-regulation in adipose tissues and in liver. We generated miR-342 knockout (miR-342<sup>-/-</sup>) mice and investigated the role of miR-342 in obesity and glucose metabolism.

MiR-342<sup>-/-</sup> mice were fed with HFHS and STD, and body weight, glucose tolerance, and insulin sensitivity were compared. Body weight in miR-342<sup>-/-</sup> mice was lower compared with miR-342<sup>+/+</sup>. By glucose tolerance tests, glucose intolerance was ameliorated in miR-342<sup>-/-</sup> mice. Insulin sensitivity was improved in miR-342<sup>-/-</sup> mice demonstrated by insulin tolerance tests. Taken together, obesity, glucose tolerance and insulin sensitivity were improved in miR-342<sup>-/-</sup> compared with miR-342<sup>+/+</sup> mice under HFHS chow. miR-342 may be a new therapeutic target for the treatment of metabolic syndrome.

研究分野：代謝学

キーワード：microRNA メタボリックシンドローム インスリン抵抗性 遺伝子発現 脂肪細胞

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

### 1. 研究開始当初の背景

近年、タンパク質に翻訳されない RNA(noncoding RNA)がさまざまな遺伝子転写や翻訳の調節など細胞の形質発現に深くかかわっていることが明らかになってきた。ゲノムにコードされた miRNA は、数百～数千塩基程度の pri-miRNA (primary miRNA)として転写されると、核内で Drosha と DGCR8 (DiGeorge syndrome critical region8)によって 70 塩基程度の stem-loop 構造を持った pre-miRNA (precursor miRNA)へとプロセスされる。Pre-miRNA は核内から細胞内へと輸送された後、Dicer によって切断され、21 塩基程度の二本鎖 RNA (miRNA/miRNA\*)となる。二本鎖のうち miRNA が RISC (RNA-induced silencing complex)と呼ばれるエフェクター複合体へと取り込まれ、部分相補的な mRNA に結合し、翻訳阻害あるいは分解することにより遺伝子発現を負に制御している。miRNA はたんぱく質がコードしている領域の約 30%を制御しているといわれている。また、miRNA は個体の発生、細胞の分化、代謝といったさまざまな生命現象の微調整役(ファインチューナー)として働いており、その発現のバランスが崩れることで 70 以上もの疾患に結びつくことがわかっている。

血清中において、miRNA は RNase に破壊されることなく安定して存在することが報告され、その後 Ago2 や HDL(high density lipoprotein)が血清中の miRNA を運搬する複合体であることが報告された。エクソソームや HDL に抱合された miRNA は他の細胞に取り込まれ細胞内 miRNA として機能し細胞間コミュニケーションにかかわっていると考えられている。特に癌においては、miRNA の発現が正常細胞に比べて相対的に減少していることが報告されており、miRNA の発現制御機構や機能を解明することは、がんに対する新たな診断や治療方法の開発に寄与すると考えられる。肺癌、前立腺癌など悪性腫瘍のバイオマーカーとして感度・特異度の高い miRNA が同定されており、転移など悪性度・予後も予測できるとの報告もある。またさらに癌以外にも肝炎、アルツハイマー病などの神経疾患、循環器疾患などでも特異的な miRNA プロファイルが発見されている。

### 2. 研究の目的

肥満や 2 型糖尿病の研究においても、多くの研究者が病態に關与する miRNA を探索している。我々は C57BL/6 マウスを高脂肪高蔗糖食群と通常食群に分け、内臓脂肪組織、肝臓、血清から total RNA を精製し、small RNA ライブラリーを作製し、イルミナ社の高速シーケンサーを用いて約 800 万リードの解析を行った。miR-342 は高脂肪高蔗糖食によって脂肪組織で 9.4 倍、肝臓で 1.5 倍とその発現が上昇することが明らかになり、さらに血中にも肝臓組織や脂肪組織と同程度のリード数が存在することを示した(Higuchi *C Metabolism* 2015 Apr;64(4):489-97)。miR-342 は乳癌細胞で発現が低下しタモキシフェン抵抗性(*Mol Cancer*. 9, 317, 2010)と関連しているとの報告や、肺癌細胞で E2F1 を直接発現抑制することによって MYC の転写活性を上昇させるとの報告もある(*Carcinogenesis* 36(12), 1464-73, 2015)。一方で miR-342-3p は間葉系幹細胞において CtBP2 を抑制し C/EBP を CtBP2 から解離させて、脂肪分化を促進するとの報告もあり(*Cell Physiol Biochem* 35(6), 2285-98, 2015)。肥満症や 2 型糖尿病病態にも關与していることが推測される。ここで我々は miR-342 ノックアウト C57BL/6 マウス(miR-342-/-)を作出し、高脂肪高蔗糖食で飼育することにより、その糖代謝・脂質代謝への影響を検討することとした。

### 3. 研究の方法

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

UC Davis Mouse Biology Program の MMRRC (Mutant Mouse Regional Resource Centers) より Sanger MirKO ES cell line Mir342 を入手してキメラマウスを作成し、さらにキメラマウスと C57BL/6 マウスを交配させることによって、germ line transmission を確認し、miR-342-/- を樹立した。これらのマウスを高脂肪高蔗糖(HFHS)食で飼育し、体重、脂肪重量、糖負荷テスト、インスリン負荷テスト、脂質プロファイルなどを検討した。

#### 4 . 研究成果

通常食下では体重に差は認められなかったが、高脂肪高蔗糖食下では、体重は miR-342-/-、miR-342+/- とともに miR-342+/+ と比較し有意差をもって低下していた。また脂肪重量も同様で、睾丸周囲脂肪、皮下脂肪、褐色脂肪いずれも miR-342-/-、miR-342+/- で重量が低下していた。また組織学的検討では白色脂肪、褐色脂肪ともに miR-342-/-、miR-342+/- において脂肪細胞のサイズの減少が確認された。インスリン負荷テストでは miR-342-/-、miR-342+/- とともに miR-342+/+ と比較してインスリン感受性の改善が認められた。さらに糖負荷テストでは、miR-342-/-、miR-342+/- とともに miR-342+/+ と比較して血糖値が低下していたが、インスリン濃度には有意差を認めなかった。すなわち HFHS 食飼育下では miR-342-/- は野生型と比較して、体重の減少、脂肪組織重量の減少、糖代謝の改善を認めた。

#### 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計1件)

Zhang Dongxiao, Satoshi Yamaguchi, Atsuko Nakatsuka, Chigusa Higuchi , Jun Eguchi, Jun Wada Amelioration of diet-induced obesity in mir342 knockout mice. Keystone symposia “Immunometabolism, metainflammation and metabolic disorders” April 14-18, 2019, Vancouver, Canada

〔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：  
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：  
国内外の別：

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

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

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。