

令和 3 年 6 月 28 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H03189

研究課題名(和文) 脂肪酸組成制御による2型糖尿病発症抑制の分子基盤の解明と予防・治療への応用

研究課題名(英文) Elucidation of the molecular mechanism of preventing diabetes onset by the regulation of fatty acid composition and its application for the prevention and treatment of type 2 diabetes

研究代表者

松坂 賢 (Matsuzaka, Takashi)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：70400679

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：Elovl6は炭素数(C) 12-16の飽和・一価不飽和脂肪酸を基質とし、C18の非必須脂肪酸を合成する脂肪酸伸長酵素である。肝臓特異的Elovl6欠損マウスの解析から、セラミドの脂肪酸鎖長(炭素数)の制御にはElovl6が重要な役割を担っており、マウスにおいて肝臓でElovl6を欠損させると、C18脂肪酸を有するセラミドが肝臓で減少し、インスリン感受性が亢進することを明らかにした。また、膵細胞特異的Elovl6欠損マウスの解析から、2型糖尿病モデルdb/dbマウスの膵細胞でElovl6を欠損させると、膵細胞が増加し、2型糖尿病の発症が抑制されることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肝臓特異的Elovl6欠損マウスの研究結果から、セラミドの脂肪酸鎖長(炭素数)の適切な制御や肝臓におけるElovl6の阻害が、脂肪肝や糖尿病の予防・治療に対する標的として有用であると考えられます。また、膵細胞特異的Elovl6欠損マウスの研究結果は、膵細胞におけるElovl6の発現や活性の変化が肥満にともなう膵細胞量の調節や代償性インスリン分泌に重要であることを示しています。これらの成果から、Elovl6の阻害や脂肪酸の質の管理による、脂肪肝や糖尿病の新しい予防法・治療法の開発が期待されます。

研究成果の概要(英文)：ELOVL fatty acid elongase 6 (Elovl6) is responsible for converting C16 saturated and monounsaturated fatty acids (FAs) into C18 species. To define the precise molecular mechanism by which hepatic Elovl6 affects energy homeostasis and metabolic disease, we generated liver-specific Elovl6 knockout mice. Our study demonstrates the key role of hepatic Elovl6 in the regulation of the acyl-chain composition of ceramide and that C18:0-ceramide is a potent regulator of hepatic insulin signaling linked to Pnpla3-mediated NAFLD. To define the role of Elovl6 in pancreatic beta-cell and type 2 diabetes development, we generated beta-cell-specific Elovl6 knockout mice and assessed the effects of beta-cell specific Elovl6 deletion in db/db mice. The double mutant mice had a markedly increased β -cell mass, an adaptive increase in insulin and improved glycemic control. Taken together, inhibition of this elongase could be a new therapeutic approach for ameliorating insulin resistance and diabetes.

研究分野：代謝学

キーワード：脂肪酸伸長酵素 Elovl6 インスリン感受性 NAFLD 2型糖尿病

1. 研究開始当初の背景

2型糖尿病は世界規模で増加の一途を辿っている。肥満は脂肪組織や全身各臓器への脂肪蓄積過多の表現型であり、それが引き金となり2型糖尿病が発症し、血管壁への脂質沈着が動脈硬化の直接原因であるという事実は、生活習慣病における脂質代謝制御の重要性を物語っている。2型糖尿病をはじめとした生活習慣病の予防の観点から肥満の防止が重要であることは明らかであるが、継続的な食生活の改善や運動は必ずしも簡単ではない。したがって、生活習慣病の予防や治療に、これまでの考え方のみから脱却したパラダイムシフト、新しい方法が求められている。そのためには、生活習慣病の基本となる脂質代謝機構の解明に新しい視点から取り組み、その制御法を開発することが重要である。

生体には様々な脂質分子が存在するが、その基本成分・前駆体として中心的な役割を果たすのが脂肪酸である。脂肪酸は鎖長や不飽和度の違いによる多様性に富み、エネルギー源、生体膜の構成成分、脂質メディエーターの前駆体として多彩な機能を持ち、あらゆる生命現象に関与する。研究代表者らは、脂質合成系を制御する転写因子 SREBP-1 の標的遺伝子として脂肪酸伸長酵素 Elovl6 をクローニングし、Elovl6 が炭素数 (C) 12-16 の飽和・一価不飽和脂肪酸を基質とし、C18 の長鎖脂肪酸を合成するリポジェニック酵素であることを明らかにした (*J Lipid Res.* 2002)。また、Elovl6 欠損マウスを作製して本酵素の生体内での酵素作用と生理的役割を解析し、Elovl6 欠損マウスの各臓器で生じる C18 以上の脂肪酸の減少、C16 以下の脂肪酸の増加などの脂肪酸組成の変化は、肥満にともなうインスリン抵抗性の改善 (*Nat Med.* 2007)、動脈硬化の抑制 (*ATVB.* 2011)、非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) の発症抑制 (*Hepatology* 2012)、2型糖尿病の発症抑制 (*Diabetes* 2017) など生活習慣病の発症抑制をもたらすことを明らかにした。これらの結果は、従来着目されていた肥満にともない臓器に蓄積する脂質の「量」のみならず、脂肪酸の鎖長や不飽和度、その存在比率(脂肪酸組成)といった脂質の「質」を制御することで、肥満が持続した状態においても2型糖尿病および生活習慣病の発症リスクを改善できる可能性を示唆する。

2. 研究の目的

このように、Elovl6 は2型糖尿病およびその合併症の予防・治療のターゲットとして期待されるが、健康増進への応用のためには、臓器・細胞レベルでの Elovl6 の生理的役割の解明、Elovl6 活性によりその量や構成脂肪酸分子種が変化し、細胞機能を制御する脂質分子の特定、Elovl6 による脂肪酸組成の変化がエネルギー代謝、インスリン感受性、インスリン分泌能におよぼす影響とその分子メカニズムの解明、が必須である。

そこで、本研究では、Elovl6 コンディショナルノックアウトマウスを用いて、肝臓および膵細胞における Elovl6 の生理的意義とインスリン感受性、インスリン分泌能における役割を分子レベルで明らかにし、脂肪酸の質の制御による2型糖尿病の新規予防法・治療法の開発に資する知見を得ることを目標とした。

3. 研究の方法

・ Elovl6 flox マウスと Albumin-Cre マウスの交配により肝臓(肝細胞)特異的 Elovl6 欠損マウスを作製し、その表現型を解析した。また、肝臓をサンプルとしてトランスクリプトーム解析およびリポミクス解析を行い、特に Elovl6 による肝臓インスリン感受性制御機構について解析した。

・ Elovl6 flox マウスと Ins1-Cre マウスの交配により膵 特異的 Elovl6 欠損マウスを作製した。また、膵 特異的 Elovl6 欠損マウスを高脂肪食で飼育することで食事誘導性肥満モデル、db/db マウスと交配にすることにより2型糖尿病モデルを作製し、そのマウスの糖代謝パラメーター(血糖値、インスリン値、HbA1c 値、糖負荷試験など)を解析した。

4. 研究成果

【肝臓特異的 Elovl6 欠損マウスの解析】

肝臓特異的 Elovl6 欠損マウスに高炭水化物を摂食させたり、遺伝性肥満肥満モデルである ob/ob マウスと交配すると、インスリン感受性が亢進することを明らかにした。肝臓特異的 Elovl6 欠損マウスの肝臓の遺伝子発現を網羅的に解析し、このインスリン感受性の亢進には、Pnpla3 と呼ばれる脂肪滴膜上に局在する、中性脂肪(トリグリセリド)の加水分解酵素(リパーゼ)の発現低下も寄与していることが明らかとなった。次に、Pnpla3 の量を変化させた肝臓特異的 Elovl6 欠損マウスを作製し、肝臓の脂質を網羅的に分析すると、肝臓特異的 Elovl6 欠損マウスの肝臓で減少し、インスリン感受性と負の相関を示す脂質分子種として、炭素数 18 のステアリン酸 (C18:0) を有するセラミド (C18:0-セラミド) を特定した。セラミドは脱リン酸化酵素プロテインホスファターゼ 2A (protein phosphatase 2A: PP2A) を活性化してインスリン作用を阻害することが知られていたが、ヒト肝癌由来細胞株 HepG2 を用いた解析から、C18:0-セラミドが内因性の PP2A 阻害因子 I2PP2A (Inhibitor 2 of PP2A) に結合し、I2PP2A を PP2A から

解離させることで PP2A を活性化させ、インスリン感受性を低下させるメカニズムを明らかにした (図 1)。したがって、Elovl6 はセラミドの脂肪酸鎖長 (炭素数) の重要な制御因子であり、肝臓における Elovl6 の阻害は C18:0-セラミドを減少させることにより、NAFLD にもなうインスリン抵抗性を改善すると考えられる (*Hepatology*. 71(5):1609-1625, 2020.)。

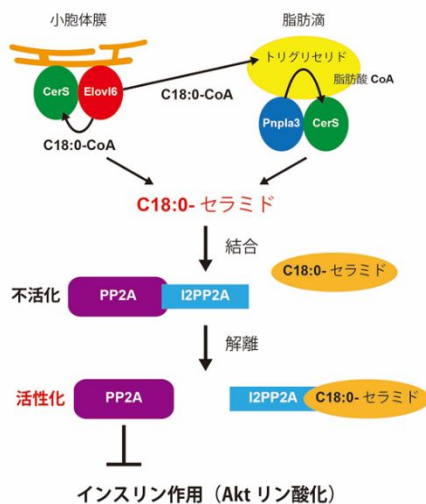


図 1. Elovl6 を介した C18:0-セラミドの蓄積がインスリン作用を阻害する仕組み

【膵 特異的 Elovl6 欠損マウスの解析】

膵 特異的 Elovl6 欠損マウスを普通食や高脂肪食で飼育した場合には、コントロールマウスと比べて体重、血糖値、インスリン値に差は認められなかった。2 型糖尿病モデル db/db マウスとのダブルミュータント (膵 特異的 Elovl6 欠損 db/db マウス) では、db/db マウスに比べて血糖値の低下、ヘモグロビン A1c 値の低下といった 2 型糖尿病の改善と、膵臓ランゲルハンス氏島の面積および細胞量の増大が認められた (図 2)。今後、膵 特異的 Elovl6 欠損 db/db マウスの膵臓ランゲルハンス氏島の包括的な脂質分析やシングルセル RNA-seq を行い、Elovl6 の欠損が強く反映される脂質の種類とその構成脂肪酸種の特定とその膵細胞における機能の解明および作用分子の同定がなされれば、ヒト 2 型糖尿病の有望な治療法への応用が期待される。

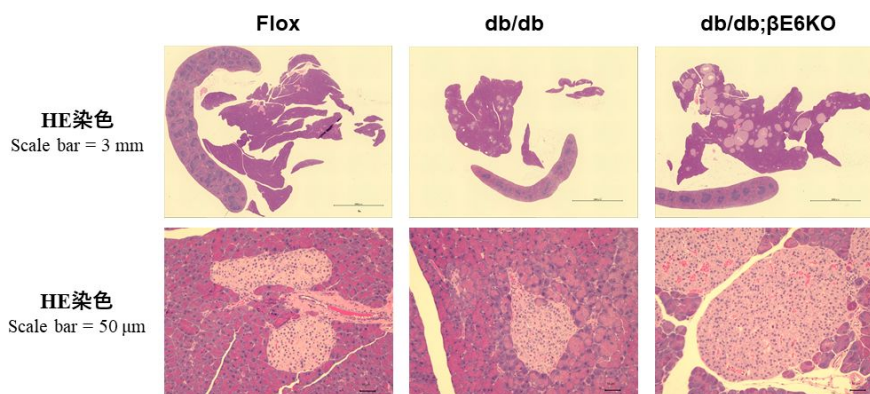


図 2. 正常マウス (Flox)、db/db マウス (中央)、膵β細胞特異的 Elovl6 欠損 db/db マウス (右) の膵臓ランゲルハンス氏島の HE 染色像。db/db マウスに比べて膵β細胞特異的 Elovl6 欠損 db/db マウスは膵臓ランゲルハンス氏島の数と大きさが増加している

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Matsuzaka T	4. 巻 12(1)
2. 論文標題 Role of fatty acid elongase Elovl6 in the regulation of energy metabolism and pathophysiological significance in diabetes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diabetol Int.	6. 最初と最後の頁 68-73
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13340-020-00481-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shimizu Yoshio, Tamura Takafumi, Kemmochi Akira, Owada Yohei, Ozawa Yusuke, Hisakura Katsuji, Matsuzaka Takashi, Shimano Hitoshi, Nakano Noriyuki, Sakashita Shingo, Oda Tatsuya, Ohkohchi Nobuhiro	4. 巻 36
2. 論文標題 Oxidative stress and Liver X Receptor agonist induce hepatocellular carcinoma in Non alcoholic steatohepatitis model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology and Hepatology	6. 最初と最後の頁 800 ~ 810
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jgh.15239	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Matsuzaka T, Shimano H.	4. 巻 11(3)
2. 論文標題 A new perspective on type 2 diabetes, dyslipidemia, and non-alcoholic fatty liver disease.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Diabetes Investig.	6. 最初と最後の頁 532-534
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13258.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Satoh A, Han SI, Araki M, Nakagawa Y, Ohno H, Mizunoe Y, Kumagai K, Murayama Y, Osaki Y, Iwasaki H, Sekiya M, Konishi M, Itoh N, Matsuzaka T, Sone H, Shimano H.	4. 巻 23(3)
2. 論文標題 CREBH Improves Diet-Induced Obesity, Insulin Resistance, and Metabolic Disturbances by FGF21-Dependent and FGF21-Independent Mechanisms.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience.	6. 最初と最後の頁 100930
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2020.100930.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ma Y, Sekiya M, Kainoh K, Matsuda T, Iwasaki H, Osaki Y, Sugano Y, Suzuki H, Takeuchi Y, Miyamoto T, Yahagi N, Nakagawa Y, Matsuzaka T, Shimano H.	4. 巻 523(2)
2. 論文標題 Transcriptional co-repressor CtBP2 orchestrates epithelial-mesenchymal transition through a novel transcriptional holocomplex with OCT1.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 354-360.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.12.070.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsuzaka T, Kuba M, Koyasu S, Yamamoto Y, Motomura K, Arulmozhiraja S, Ohno H, Sharma R, Shimura T, Okajima Y, Han SI, Aita Y, Mizunoe Y, Osaki Y, Iwasaki H, Yatoh S, Suzuki H, Sone H, Takeuchi Y, Yahagi N, Miyamoto T, Sekiya M, Nakagawa Y, Ema M, Takahashi S, Tokiwa H, Shimano H.	4. 巻 71(5)
2. 論文標題 Hepatocyte ELOVL Fatty Acid Elongase 6 Determines Ceramide Acyl-Chain Length and Hepatic Insulin Sensitivity in Mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hepatology	6. 最初と最後の頁 1609-1625
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/hep.30953.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyamoto Takafumi, Matsuzaka Takashi, Shimano Hitoshi	4. 巻 10
2. 論文標題 Rho associated, coiled coil containing protein kinase?1 as a new player in the regulation of hepatic lipogenesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 1165 ~ 1167
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13051	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sharma R, Matsuzaka T, Kaushik MK, Sugawara T, Ohno H, Wang Y, Motomura K, Shimura T, Okajima Y, Mizunoe Y, Ma Y, Saber ZM, Iwasaki H, Yatoh S, Suzuki H, Aita Y, Han SI, Takeuchi Y, Yahagi N, Miyamoto T, Sekiya M, Nakagawa Y, Shimano H.	4. 巻 9(1)
2. 論文標題 Octacosanol and policosanol prevent high-fat diet-induced obesity and metabolic disorders by activating brown adipose tissue and improving liver metabolism.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 5169
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-41631-1.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakamura Y, Matsuzaka T, Tahara-Hanaoka S, Shibuya K, Shimano H, Nakahashi-Oda C, Shibuya A.	4. 巻 9(12)
2. 論文標題 Elovl6 regulates mechanical damage-induced keratinocyte death and skin inflammation.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Death Dis.	6. 最初と最後の頁 1181
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41419-018-1226-1.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ozawa Yusuke, Tamura Takafumi, Owada Yohei, Shimizu Yoshio, Kemmochi Akira, Hisakura Katsuji, Matsuzaka Takashi, Shimano Hitoshi, Isoda Hiroko, Ohkohchi Nobuhiro	4. 巻 24
2. 論文標題 Evaluation of safety for hepatectomy in a novel mouse model with nonalcoholic-steatohepatitis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 World Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 1622 ~ 1631
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3748/wjg.v24.i15.1622	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ohno H, Matsuzaka T, Tang N, Sharma R, Motomura K, Shimura T, Satoh A, Han SI, Takeuchi Y, Aita Y, Iwasaki H, Yatoh S, Suzuki H, Sekiya M, Nakagawa Y, Sone H, Yahagi N, Yamada N, Higami Y, Shimano H.	4. 巻 159(6)
2. 論文標題 Overexpressing SREBP-1a in Male ob/ob Mice Exhibit Lipodystrophy and Exacerbate Insulin Resistance.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Endocrinology.	6. 最初と最後の頁 2308-2323
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/en.2017-03179.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Karasawa T, Kawashima A, Usui-Kawanishi F, Watanabe S, Kimura H, Kamata R, Shirasuna K, Koyama Y, Sato-Tomita A, Matsuzaka T, Tomoda H, Park SY, Shibayama N, Shimano H, Kasahara T, Takahashi M.	4. 巻 38(4)
2. 論文標題 Saturated Fatty Acids Undergo Intracellular Crystallization and Activate the NLRP3 Inflammasome in Macrophages.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Arterioscler Thromb Vasc Biol.	6. 最初と最後の頁 744-756
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/ATVBAHA.117.310581.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 松坂 賢、島野 仁
2. 発表標題 脂肪酸伸長酵素Elovl6による脂肪酸の質の制御と生活習慣病
3. 学会等名 日本薬学会第141年会シンポジウム S05「生活習慣病研究の進展と創薬への展開」（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松坂 賢、島野 仁
2. 発表標題 セラミドの脂肪酸分子種によるプロテインホスファターゼ2Aの活性制御機構：脂肪酸伸長酵素Elovl6の重要性とインスリン感受性における意義
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松坂 賢
2. 発表標題 脂肪酸伸長酵素Elovl6 によるエネルギー代謝制御機構と糖尿病における病態生理学的意義に関する研究
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松坂賢、久芳素子、小安さおり、大野博、島野 仁
2. 発表標題 脂肪酸伸長酵素Elovl6は肝臓においてセラミドの脂肪酸鎖長と インスリン感受性を制御する
3. 学会等名 第14回スフィンゴセラピー研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松坂賢、久芳素子、小安さおり、本村香織、大野博、Sharma R、武内謙憲、矢作直也、宮本崇史、関谷元博、中川嘉、島野仁
2. 発表標題 肝臓特異的Elovl6欠損マウスの肝臓ではC18-ceramideが減少することによりインスリン感受性が亢進する
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takashi Matsuzaka, Kaori Motomura, Hiroshi Ohno, Rahul Sharma, Takuya Shimura, Yuta Yamamoto, Sundaram Arulmozhiraja, Takafumi Miyamoto, Motohiro Sekiya, Yoshimi Nakagawa, Akio Hayashi, Hiroaki Tokiwa, Hitoshi Shimano
2. 発表標題 Hepatocyte-specific deletion of Elovl6 enhances hepatic insulin sensitivity through suppression of C18:0-ceramide production
3. 学会等名 60th International Conference on the Bioscience of Lipids (ICBL) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松坂 賢、林 昭夫、島野 仁
2. 発表標題 脂肪酸伸長酵素Elovl6による肝臓インスリン感受性制御機構の解析
3. 学会等名 第61回 日本脂質生化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sharma R, Matsuzaka T, Kaushik MK, Yahagi N, Miyamoto T, Sekiya M, Nakagawa Y, Shimano H.
2. 発表標題 Octacosanol prevents HFD-induced obesity by activating energy expenditure and thermogenesis in brown and beige fats
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松坂賢、島野仁
2. 発表標題 脂肪酸伸長酵素 Elovl6による脂肪酸の質の制御と組織内蓄積脂肪
3. 学会等名 第40回日本臨床栄養学会総会・第39回日本臨床栄養協会総会 第16回大連合大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松坂賢、島野仁
2. 発表標題 脂肪酸の質的变化による脂質代謝、エネルギー代謝
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大野 博、松坂 賢、唐 ネ、Sharma Rahul、本村香織、志村拓哉、佐藤 葵、鈴木浩明、関谷元博、中川 嘉、曾根博仁、矢作直也、山田信博、樋上賀一、島野 仁
2. 発表標題 ob/obマウスにおけるSREBP-1a過剰発現はリポシストロフィーとインスリン抵抗性の増悪を示す
3. 学会等名 第39回日本肥満学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

筑波大学 医学医療系 松坂研究室
<https://sites.google.com/view/matsuzakalab-tsukuba/home>
 筑波大学 トランスポーター医学研究センター
<http://www.md.tsukuba.ac.jp/tmrc/index.html>
 筑波大学内分泌代謝・糖尿病内科
<https://www.u-tsukuba-endocrinology.jp/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------