

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08504

研究課題名(和文) リパーゼの糖尿病における新たな役割の解明

研究課題名(英文) Elucidation of novel relationships between lipase and diabetes

研究代表者

高梨 幹生 (Takanashi, Mikio)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：70610799

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：細胞内の中性脂肪やコレステロールエステルを水解するリパーゼであるホルモン感受性リパーゼ(HSL)の欠損マウスを主に用い、その他にもリポ蛋白リパーゼ(LPL)の補因子であるアポリポ蛋白A5(apoA5)の欠損マウス、脂質代謝における重要因子であるSREBP-1cの欠損マウスなどを用い、リパーゼと糖尿病との関連について研究を行った。

HSL欠損はインスリン欠乏下での生存に有利なことを見出し、apoA5欠損でのカイロミクロン蓄積はSREBP-1c非依存的である一方、VLDL蓄積はSREBP-1c依存的であることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2014年にホルモン感受性リパーゼ(HSL)のヒトでの欠損家系が初めて報告され、HSL欠損は糖尿病と強く関連していることが示された。しかしこれまでにHSL欠損マウスでの研究で得られた知見からは糖尿病と強い関連は示されていなかった。ある種の高炭水化物食がHSL欠損マウスで脂肪肝やインスリン抵抗性を誘発するという予備的知見を元に、HSL欠損と糖尿病との詳細な関連を探った。この研究により糖尿病や糖尿病性高中性脂肪血症に対する新たな治療targetが示される可能性が期待されている。また、apoA5欠損マウスを用いた研究からは高中性脂肪血症のメカニズムの一端が解明され、今後の応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：We investigated the relationship between lipase and diabetes using hormone-sensitive lipase (HSL) deficient mice, apolipoprotein A5 (apoA5) deficient mice, and SREBP-1c deficient mice.

We clarified that HSL deficiency favors survival under insulin deficiency, and that chylomicron accumulation in apoA5 deficiency is SREBP-1c-independent, while VLDL accumulation is SREBP-1c-dependent.

研究分野：脂質代謝

キーワード：高中性脂肪血症 リポ蛋白リパーゼ ホルモン感受性リパーゼ アポリポ蛋白A5 SREBP1c インスリン

1. 研究開始当初の背景

ホルモン感受性リパーゼ(HSL)は細胞内のトリグリセリド(TG)やコレステロールエステル(CE)を水解するリパーゼである。HSL 欠損マウスではインスリン欠乏に合併する高 TG 血症が rescue されることは先行研究からすでに見出し、これまでに各種学会で報告している。さらに HSL 欠損マウスではレプチン抵抗性を来たすことをこれまでに報告している(Takanashi M JAT 2017)。

肥満やそれに伴う各組織への中性脂質蓄積は、リポトキシシティとも呼ばれ、糖尿病やメタボリックシンドローム (MetS) における糖脂質代謝異常の病態に大きな役割を果たす。各組織において、細胞内で中性脂質水解を担う酵素 (リパーゼ) は複数あるが、そのうちの一つである HSL は、ヒト HSL 欠損症が糖尿病のリスクとなることから、特に重要と考えられている (Albert JS NEJM 2014)。一方でこの phenotype (糖尿病リスクの増加) は HSL 欠損マウスでは再現されないことから、HSL の糖尿病や MetS における役割については、未だ十分に明らかとなっていない。

HSL 欠損マウスでの糖代謝異常については、これまでも我々含む複数グループが精力的に検討してきたが (Harada K Am J Physiol Endocrinol Metab 2003)、従来用いられてきた高脂肪食モデルなどでは、複数のラインの HSL 欠損マウスに一致して認められる大きな糖代謝の phenotype (明らかなインスリン抵抗性や糖尿病) はこれまで見出されていない。最近ではよりシンプルな食餌モデルとして、高グルコース食や高フルクトース食の糖質代謝における役割が注目されてきているが (Stanhope KL J Clin Invest 2009 ; Softic S J Clin Invest 2017)、我々は既に予備的検討において、ある種の高炭水化物食が HSL 欠損マウスでインスリン抵抗性を来たすことを確認している。

さらにアポリポ蛋白 A5 (apoA5) は高 TG 血症の原因遺伝子であり、ヒトでは欠損により著しい高 TG 血症を来たすことが知られている (Marçais C J Clin Invest 2005)。また、apoA5 は若年性冠動脈疾患の原因遺伝子であることが報告されている (Do R Nature 2015)。一方、apoA5 欠損マウスは野生型マウスと比較して高 TG 血症を認めるものの、通常条件下ではヒトで観察されるほどの著しい高 TG 血症は来たさない (Pennacchio LA Science 2001) ことが知られており、高 TG 血症を生じるための trigger が必要となる。我々は前述の HSL 欠損マウスを用いた一連の研究により、糖尿病化や高炭水化物食がこの trigger になり得るものと考えに至った。

これらの背景・予備的知見から本研究課題の着想を得た。

2. 研究の目的

HSL 欠損マウスの糖代謝は、従来は高脂肪食や ob/ob などの極端なモデルで研究されてきたが、このようなよりシンプルな食餌負荷モデルを用いることにより、新たな機能解明に迫れる可能性が高いものと考えられた。また apoA5 欠損マウスにおける高 TG 血症は、通常時は顕在化しないものの糖尿病化や高炭水化物食摂食下などで顕在化する点が、ヒトにおけるより生理的な条件下での高 TG 血症を再現するモデルとして有用と考えられた。HSL 欠損マウスや apoA5 欠損マウスを始めとしたリパーゼ欠損・活性低下モデルを用いて、糖尿病条件下や高炭水化物食摂食下におけるリパーゼと糖尿病との関連を探り、特に diabetic lipemia の発症機序、インスリン抵抗性への影響など、糖尿病の発症メカニズムの解明や diabetic lipemia の制御に関する新知見を得ることを本研究課題の目的とした。

3. 研究の方法

(1) HSL 欠損マウスを用いた研究

各種代謝負荷食餌モデル (各種高炭水化物食、ケトン産生食など) を野生型マウスと HSL 欠損マウスにおいて負荷比較検討することにより、HSL の糖代謝における新たな役割を解明する。具体的には摂餌量、体重、各種組織重量、遺伝子発現解析、各種代謝指標測定、インスリン感受性試験、耐糖能試験などの代謝動態を評価検討する。

また、Streptozotocin (STZ) によりインスリン欠乏にした際の高 TG 血症については、これまでも複数回学会などで発表しているが、いずれも 7 日間程度の短期の観察結果であり、長期的な影響については未評価であった。HSL 欠損マウスは細胞内脂質の水解が困難であることから脂質利用が低下していると考えられ、一方 STZ 処理下ではインスリン欠乏により糖利用も低下していると考えられる。このような状況下で長期的に飼育した場合の脂肪、筋、肝への影響、体温など恒常性への影響、さらには寿命などについて評価検討する。

(2) apoA5 欠損マウスを用いた研究

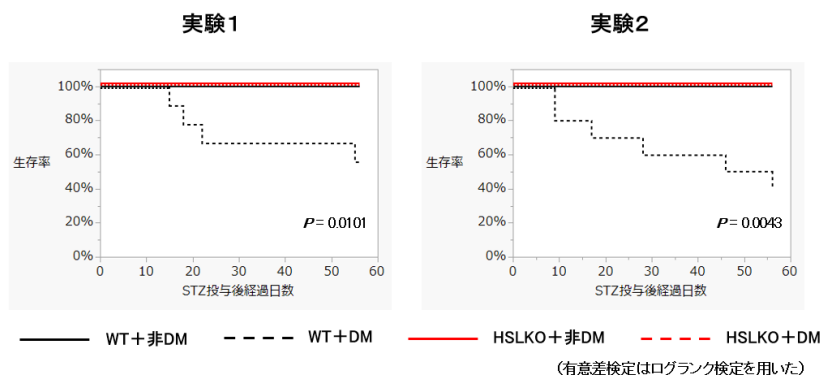
apoA5 はリポ蛋白リパーゼ (LPL) の活性に関連するアポリポ蛋白であり、その欠損は LPL 活性

の低下を招き高 TG 血症を来す。LPL は VLDL にもカイロミクロン (CM) にも作用するリパーゼであり、apoA5 欠損においては VLDL も CM も蓄積し得るが、その詳細な制御メカニズムは知られていない。本研究では apoA5 単独欠損マウスのほか、SREBP-1c との両欠損マウスを用い、高炭水化物食負荷やオリーブオイル投与を行い、または STZ 投与によりインスリン欠乏にした際の、脂質動態について評価検討を行う。

4. 研究成果

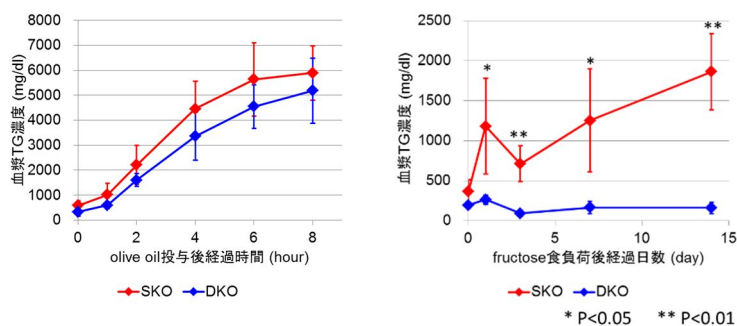
(1) HSL 欠損マウスを用いた研究

野生型マウス (WT) と HSL 欠損マウス (HSLKO) との間で特に顕著な差異が生じたのは、STZ によりインスリン欠乏にした糖尿病モデル (DM) において、長期に飼育した際の生存率についてであった。WT+DM では、day56 時点での生存率が低下した (実験 1: 55.5% (5 匹/9 匹)、実験 2: 40.0% (4 匹/10 匹))。一方、HSLKO+DM では WT+非 DM、HSLKO+非 DM と同様に生存率は 100% であった。WT+DM では、WT+非 DM と比較して、経過中に体重減少、体温低下、ケトン体上昇を認めた。HSLKO+DM でも HSLKO+非 DM と比較して同様の傾向を認めたが、その変化は WT+DM と比較すると軽微であった。組織所見では、WT+DM は WT+非 DM と比較して、また HSLKO+DM は HSLKO+非 DM と比較して、有意に白色脂肪組織重量や骨格筋重量の減少を認めたが、genotype 間での有意差は認めなかった。このことから、HSL 欠損はインスリン欠乏下での生存に有利なことが示された。脂肪分解の異常な亢進が、インスリン欠乏による致死的病態を惹起している可能性があるものと考えられた。



(2) apoA5 欠損マウスを用いた研究

オリーブオイル投与 6 時間後の血漿 TG 値は、apoA5 単独欠損マウス (SKO) 5635 ± 1468 mg/dl に対し、両欠損マウス (DKO) 4547 ± 866 mg/dl と差を認めなかった ($p=0.27$)。このことから apoA5 欠損での CM 蓄積は SREBP-1c 非依存的と考えられた。一方でフルクトース食を給餌して高 VLDL 血症を惹起させると、食餌負荷 14 日目の時点で、SKO では 1865 ± 478 mg/dl と著しい高 TG 血症が誘発されたのに対し、DKO では 162 ± 70 mg/dl と高 TG 血症が惹起されなかった ($p<0.001$)。このことから apoA5 欠損での VLDL 蓄積は SREBP-1c 依存的と考えられた。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takanashi Mikio, Kimura Takeshi, Okazaki Hiroaki, et.al.	4. 巻 39
2. 論文標題 Critical Role of SREBP-1c Large-VLDL Pathway in Environment-Induced Hypertriglyceridemia of Apo AV Deficiency	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology	6. 最初と最後の頁 373 ~ 386
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/ATVBAHA.118.311931	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 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高梨幹生、石セイセン、李驍驍、田中督記、木村武史、高瀬暁、岡崎佐智子、飯塚陽子、門脇孝、山内敏正、岡崎啓明
2. 発表標題 ホルモン感受性リパーゼ欠損がインスリン欠乏時の生存に及ぼす影響
3. 学会等名 第52回日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高梨幹生、石セイセン、李驍驍、田中督記、木村武史、高瀬暁、岡崎佐智子、飯塚陽子、門脇孝、山内敏正、岡崎啓明
2. 発表標題 インスリン欠乏による致死的代謝異常におけるホルモン感受性リパーゼの重要な役割
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 高梨幹生
2. 発表標題 糖尿病性高中性脂肪血症とホルモン感受性リパーゼ
3. 学会等名 第179回 東京脂質談話会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------	---------