

令和 3 年 4 月 14 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08513

研究課題名（和文）脂肪組織酸化ストレスと健康的脂肪組織肥大のSrebp1転写共役因子に着目した解析

研究課題名（英文）Analysis of Srebf1 transcriptional coregulator in adipose oxidative stress and healthy adipose expansion

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） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：副腎性クッシング症候群の一部である両側性大結節性副腎皮質過形成の原因遺伝子であるARMC5が、全長型SREBF1に結合すること、ARMC5はCUL3を含んだユビキチンリガーゼ複合体を全長型SREBF1に誘導してユビキチン化して分解すること、この分子機構により、副腎皮質細胞において、ARMC5はコレステロール合成を制御することにより、細胞増殖を変化させ、両側性大結節性副腎皮質過形成の発症に寄与す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
クッシング症候群の一部である両側性大結節性副腎皮質過形成の発症機構を明らかにし、その治療に貢献する可能性がある。また、SREBF1は脂質合成やコレステロール合成を介して、肥満、脂肪肝、血中コレステロール濃度にも寄与しており、ARMC5を介したhealthy adipose expansion、脂肪肝、高コレステロール血症の制御にもつながる可能性があると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we found the molecular interaction between full-length SREBF1 and ARMC5, the causal gene of bilateral macronodular adrenal hyperplasia (BMAH). ARMC5 recruited ubiquitin ligase complex containing CUL3 and ubiquitinated full-length SREBF1. In adrenocortical cells, ARMC5 regulated cholesterol synthesis and cell proliferation, which resulted in progression of BMAH.

研究分野：内分泌

キーワード：ARMC5

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

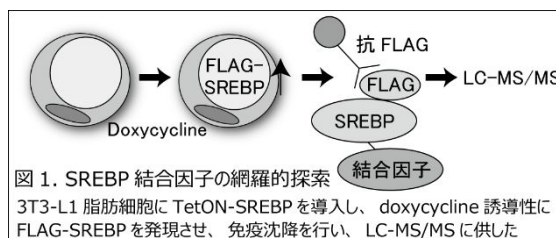
助成者はこれまで、脂肪細胞特異的酸化ストレス除去マウス、脂肪細胞特異的酸化ストレス増加マウスの作出・解析を行い、*in vivo*における脂肪細胞酸化ストレスの病態学的意義を解析した。その結果、脂肪細胞において、酸化ストレスは Srebp1 の転写活性を抑制し、脂質合成を抑制すること、酸化ストレスによる脂質合成低下は、脂肪組織減少・異所性脂肪蓄積増大・インスリン抵抗性増悪、即ち *adipose healthy expansion* の抑制を伴うことを見出した(Okuno et al., *Diabetes*, 2018)。

2. 研究の目的

本研究では、以上の知見をさらに発展させ、酸化ストレスによる Srebp1 転写活性抑制の、転写共役因子に着目した機構解明、脂肪細胞脂質合成を介した *adipose healthy expansion* の糖尿病治療標的としての可能性の2点を研究目的とした。

3. 研究の方法

助成者は、脂質代謝の新規制御因子の同定を目的とし、脂質合成において中心的な役割を果たす SREBF に着目し、生化学的精製により結合因子を網羅的に探索した(図 1)。

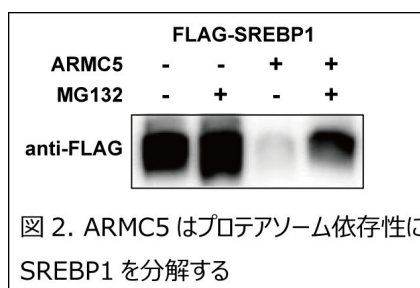


4. 研究成果

1) nuclear SREBF を bait とした生化学的精製により、クッシング症候群の一型である両側副腎皮質大結節性過形成(BMAH)の原因遺伝子である ARMC5 (Assie G et al., *N Engl J Med.*, 2013)が SREBP に結合する可能性を見出した。ARMC5 のドメイン欠失体と nuclear SREBF1 の共免疫沈降により、nuclear SREBF1 は、ARMC5 の Armadillo repeat に結合すること、ARMC5 は、nuclear SREBF2 にも結合することが明らかになった。

2) ARMC5 の BTB domain への結合因子を探索した。ARMC5 の野生型、BTB domain 欠失体を bait とした生化学的精製を行ったところ、ユビキチンリガーゼ複合体の構成因子である Cullin 3 (CUL3)が取得された。ユビキチンアッセイにより、ARMC5 がユビキチン化されること、ARMC5 の蛋白量はプロテアソーム阻害剤 MG132 により増加することを確認した。

3) HEK293T において、ユビキチンと ARMC5 を過剰発現させたところ、nuclear SREBF1 の蛋白量は変化しなかったが、全長型 SREBF1 の蛋白量は著明に減少した(図 2)。この効果は、ARMC5 の Armadillo repeat 欠失体や BTB domain 欠失体では認められなかった。また、MG132 により rescue された。また、ユビキチンアッセイにより、ARMC5 が全長型 SREBF1 のユビキチン化を促進することを明らかにした。これ



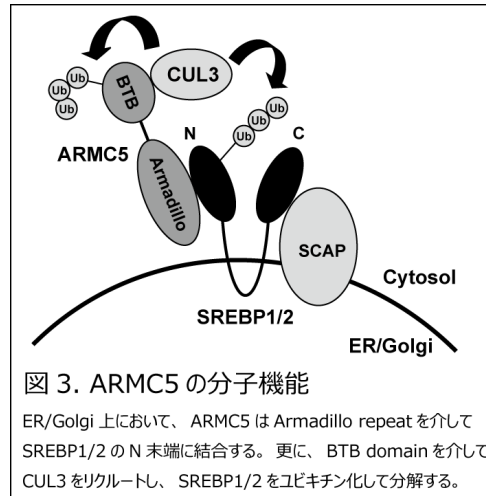
らのことから、ARMC5 は、全長型 SREBF のユビキチンリガーゼのアダプターであると考えられた(図 3)。

4) 副腎皮質細胞 H295R において、ARMC5 を siRNA によりノックダウンした所、全長型 SREBF1、SREBF2 の蛋白量は増加し、その標的遺伝子である HMGCS1、HMGCR、LDLR 等の遺伝子発現は増加した。また、siARMC5 により H295R の細胞増殖は亢進したがこの効果は、siSREBF2 の導入により消失した。

5) C57BL/6J マウスに絶食負荷を行った所、ARMC5

の発現は肝臓において低下した。また、肥満モデルマウス db/db マウスは、対照群のマウスに比べ、肝臓において ARMC5 の発現が増加し、褐色脂肪組織において発現が低下した。これらの変化は SREBF1 の変化と同様であった。

6) Armc5 mutant マウスを EUCOMM より導入し、CAG-FLPe と交配させ、Armc5 flox マウスを作成した。更に、脂肪細胞特異的 Adipoq-Cre あるいは肝臓特異的 Alb-Cre と交配させ、脂肪細胞特異的 Armc5 欠損マウスの作出は完了した。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 奥野陽亮、福原淳範、大月道夫、下村伊一郎
2. 発表標題 脂肪細胞における核内SREBP1結合因子の探索
3. 学会等名 第92回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 奥野陽亮
2. 発表標題 脂肪細胞における核内SREBP1結合因子の探索
3. 学会等名 第92回日本内分泌学会学術総会
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
研究分担者	大月 道夫 (Otsuki Michio) (00403056)	大阪大学・医学系研究科・准教授 (14401)	
研究分担者	福原 淳範 (Fukuhara Atsunori) (00437328)	大阪大学・医学系研究科・寄附講座准教授 (14401)	

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