

令和 3 年 4 月 8 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K11077

研究課題名（和文）ミトコンドリア依存的な代謝と肥満の分子メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of the molecular mechanism of mitochondrial metabolism and obesity

研究代表者

後藤 和人（Gotoh, Kazuhito）

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：50711214

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）：我々の研究グループは、ミトコンドリアに局在したp32の翻訳や代謝を制御する分子の一つであるp32に着目し、樹状細胞の代謝・活性化におけるミトコンドリアを介する経路の一つを明らかにした。その代謝経路の中で特にピルビン酸デヒドロゲナーゼという酵素が重要な因子であることを明らかにした。CPI-613という低分子化合物は、樹状細胞の活性化を阻害した。さらに、この阻害剤はマウスの卵白アルブミンを用いた卵アレルギーの病態モデルにおいて、p32部分欠損マウスと同様に卵白アルブミンに対する抗体産生量を減少させた。これらの結果により、卵アレルギーを含むアレルギー性疾患の創薬開発につながる事が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CPI-613はマウスの卵白アルブミンを用いた卵アレルギーの病態モデルにおいて、p32部分欠損マウスと同様に卵白アルブミンに対する抗体産生量を減少させた。これらの結果により、p32やピルビン酸デヒドロゲナーゼの阻害は、卵アレルギーを含むアレルギー性疾患の創薬開発につながる事が期待される。本研究は、2018年11月13日（米国東部時間）に科学誌「Cell Reports」のオンライン版で公開し、九州大学よりプレスリリースを行った。内容はオンライン誌に取り上げられ、注目を集めた。

研究成果の概要（英文）：Dendritic cell (DC) maturation induced by Toll-like receptor agonists requires activation of downstream signal transduction and metabolic changes. Here, we demonstrate that p32/C1qbp, which functions as a multifunctional chaperone protein in mitochondria, supports mitochondrial metabolism and DC maturation. Metabolic analysis revealed that the citrate increase induced by lipopolysaccharide (LPS) is impaired in p32-deficient DCs. We also found that p32 interacts with dihydrolipoamide S-acetyltransferase (E2 component of pyruvate dehydrogenase [PDH] complex) and positively regulates PDH activity in DCs. Therefore, we suggest that DC maturation is regulated by citrate production via p32-dependent PDH activity. p32-null mice administered a PDH inhibitor show decreased DC maturation and ovalbumin-specific IgG production in vivo, suggesting that p32 may serve as a therapeutic target for DC-related autoimmune diseases.

研究分野：臨床検査医学

キーワード：ミトコンドリア 肥満

## 1. 研究開始当初の背景

生体の生命活動は「代謝」とよばれる ATP を主とするエネルギー獲得・消費によって支えられている。グルコースや脂肪酸などの食物は生体内に取り込まれると解糖系やミトコンドリア依存的な代謝により ATP を産生するために代謝される。肥満・糖尿病・脂肪肝などのメタボリック症候群は、生体が摂取するエネルギーと消費するエネルギーのバランスの崩壊に伴う全身性の疾患である。厚生労働省の平成 28 年「国民健康・栄養調査」では、肥満者(BMI 25 以上)の割合は男性 31.3%、女性 20.6%であると報告されており、メタボリック症候群の予備群も含めると 1940 万人と推定されている。今日において、肥満やメタボリック症候群は疾患というよりむしろ、国民の健康・栄養状態そのものであり、健康科学・栄養科学においては肥満の原因の究明や治療法の創出は最終目標ともいえる。

ミトコンドリアはエネルギー代謝の中心的役割を担っており、脂肪酸やグルコースより変換されたピルビン酸から ATP を効率よく産生する。グルコース 1 分子から解糖系では 2 分子の ATP が産生されるのに対して、グルコースをピルビン酸に変換してミトコンドリアに取り込まれるとクエン酸回路で 36 分子の ATP を産生できることから、生体においてエネルギー代謝はミトコンドリアに大半を依存しているといえる。これまでに肥満遺伝子の解明に挑戦した結果、ヒトやマウスにおいて多くの肥満遺伝子が同定された(Walley et al., Nature Review Genetics, 2007)。さらに、肥満マウスの詳細な解析により、肥満を改善させる分子も同定されてきている。特に、ATF4(Seo et al., Diabetes, 2009)や FGF21(Kharitonov et al., J Clin Invest, 2005)や GDF15(Xiong et al., Science, 2017)が肥満を改善させる分子であると報告され学問的注目を集めている。FGF21 や GDF15 が肥満を改善できることが明らかとなっているが、その詳細な分子メカニズムは不明である。

ミトコンドリアには独自の DNA が存在し、核とは異なり約 16 キロ塩基対の環状 2 本鎖 DNA で多コピーゲノムである。我々の研究室では、このミトコンドリア DNA に結合して DNA の量(コピー数)を制御する分子 TFAM(mitochondrial transcription factor A)を同定した。また、TFAM 過剰発現トランスジェニックマウスを樹立し、そのマウスが心筋梗塞後の死亡率を低下することを明らかにした(Ikeuchi et al., Circulation, 2005)。さらに TFAM を過剰発現する TFAM 過剰発現トランスジェニックマウスを独自に樹立したところ、予想外に、TFAM 過剰発現マウスは野生型マウスよりも皮下脂肪の量が少なく、体重が 25%程度減少(左図)している上に、長寿であることが明らかとなった。さらにマイクロアレイなどを用いて、遺伝子解析をすると FGF21 や GDF15 が過剰に発現(下図)していることが明らかとなった。

## 2. 研究の目的

本研究は、我々が独自に樹立した長寿である上に肥満を予防することのできるマウスを用いて、これまでにない切り口で、肥満の病態の解明に挑戦する。ヒトやマウスを用いた肥満の研究により多くの遺伝子や生理活性物質の役割が明確になったが、残念ながら日本人においてはより不健康な社会へと進んできている。そこで、本研究では、ミトコンドリアの機能の維持・代謝に重点を置き、食物など栄養療法により補充できる代謝産物や運動など日常生活においてできるミトコンドリア機能なども含めた網羅的解析にて、ミトコンドリア依存的な新規の肥満の分子メカニズムの解明に挑戦する。

## 3. 研究の方法

(1) ミトコンドリア機能と肥満の関係のマウスの個体を用いた解析

① TFAM 過剰発現マウスと肥満の関係：我々は独自に全身性 TFAM 過剰発現マウスを樹立した。さらに現在、Cre-loxp システムを用いた臓器特異的 TFAM 過剰発現マウスの樹立に着手している。全身性・脳・心臓・肝臓・筋肉・血球特異的 TFAM 過剰発現マウスを樹立して、TFAM の過剰発現がどの臓器特異的に肥満に関与しているかを明確にする。

② 臓器特異的 TFAM 欠損マウスと肥満の関係：これまでの報告において全身性・心臓・血球特異的 TFAM 欠損マウスは胎生致死であることが報告されているため、肝臓・マクロファージ特異的 TFAM 欠損マウスを樹立して、TFAM の遺伝子欠損が肥満に関与しているかを明確にする。

③ 臓器特異的 p32 欠損マウスと肥満の関係：我々は独自にミトコンドリアの代謝を制御する p32 という遺伝子を同定して、ノックアウトマウスを樹立した。これまで我々が報告した通り全身性・脳特異的 p32 欠損マウスは胎生致死である。また、心臓・肝臓・マクロファージ特異的 p32 欠損マウスは肥満に影響がなく、血球系特異的 p32 欠損マウスのみが体重減少することを見出したため、このマウスを用いて詳細な解析を行う。

(2) 肥満の改善につながるマウスを用いて、ミトコンドリア依存的な肥満関連分子の同定  
前述の個体レベルの解析において、我々が独自に作成した全身性 TFAM 過剰発現マウス・血球系特異的 p32 欠損マウスは、体重が 25%程度減少していることを予備実験で見出した。さらに多くのミトコンドリア機能によるやせマウスを樹立できると考えている。

① マイクロアレイを用いた遺伝子発現量の解析 マウスの個体レベルの肥満の解析により、肥満に影響がある臓器や細胞より mRNA を抽出して、マイクロアレイを用いて遺伝子発現を解析する。

② 血漿中のメタボローム解析 コントロールマウスの血清と比較して、やせマウスないしは肥満マウスの代謝産物を網羅的に測定する。

③ 血清 FGF21、GDF15 などの肥満関連物質の解析 既存の肥満に関連する物質と比較して、我々が見出した物質がより優位かどうか、比較解析する。

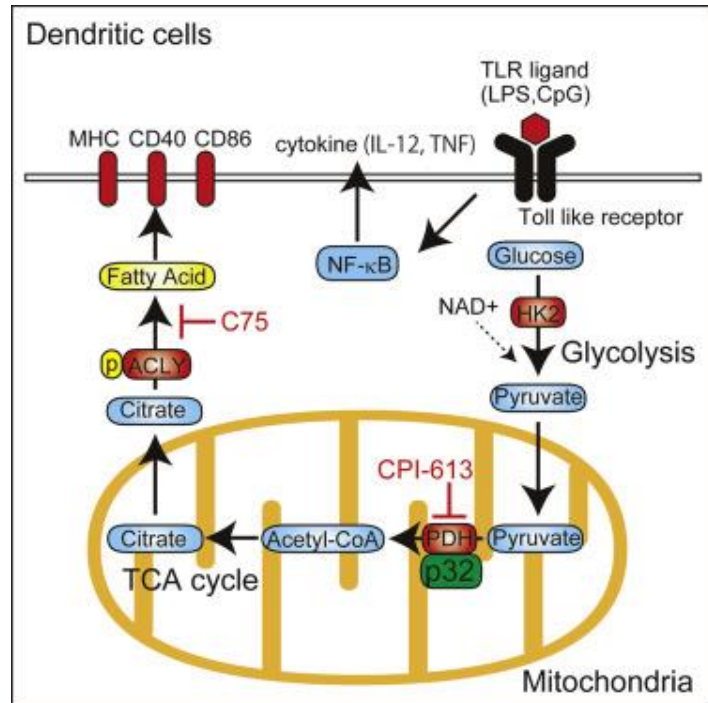
(3) 病態モデルの改善の解析

本研究により見出した遺伝子や代謝産物が実際に肥満モデルや高脂血症モデルの病態の改善につながるか、マウスに投与して解析する。

#### 4. 研究成果

(1) 樹状細胞におけるミトコンドリア機能の解析

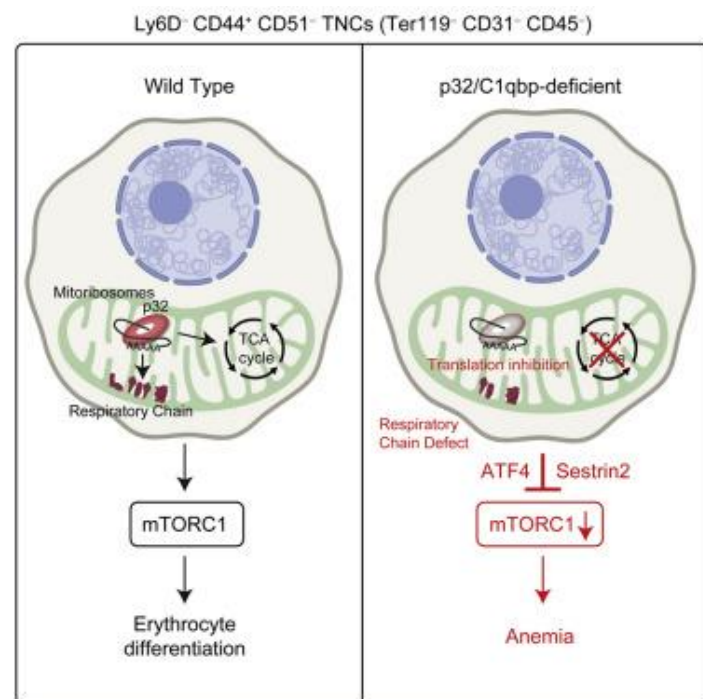
我々は、ミトコンドリアに局在したタンパク質の翻訳や代謝を制御する分子の一つである p32/C1qbp に着目し、樹状細胞の代謝・活性化におけるミトコンドリアを介する経路の一つを明らかにした。その代謝経路の中で特にピルビン酸デヒドロゲナーゼという酵素がミトコンドリア内でのクエン酸合成や樹状細胞の活性化に重要な因子であることを明らかにした。ピルビン酸デヒドロゲナーゼの阻害剤である CPI-613 という低分子化合物は、樹状細胞の活性化を阻害した。さらに、この阻害剤はマウスの卵白アルブミンを用いた卵アレルギーの病態モデルにおいて、p32 部分欠損マウスと同様に卵白アルブミンに対する抗体産生量を減少させた。これらの結果により、p32 やピルビン酸デヒドロゲナーゼの阻害は、卵アレルギーを含むアレルギー性疾患の創薬開発につながる



ことが期待される。本研究は、2018年11月13日（米国東部時間）に科学誌「Cell Reports」のオンライン版で公開し、九州大学よりプレスリリースを行った。内容はオンライン誌に取り上げられ、注目を集めた(左図)。

(2) 骨髄細胞にミトコンドリア機能の解析

ミトコンドリアの翻訳を阻害する薬剤は、再生不良性貧血などの副作用があるために、長期的な服用が避けられてきた。この副作用は1969年に報告されているが、ミトコンドリアの翻訳と血球分化の関係はいまだ不明である。我々は、ミトコンドリアの翻訳を制御している遺伝子 p32 を血球特異的に欠損しているマウスを樹立した。その結果、これまでの研究結果と同様に貧血になることを見出した。また、これまでに骨髄間質細胞から血球細胞に分化しないと考えられていたが、我々の研究グループは、Ter119・CD31・CD45 陰性の骨髄間質細胞から赤血球・Bリンパ球に分化することを明らかにした。さらに骨髄間質細胞より血球細胞に分化するミトコンドリア依存的なメカニズムを明らかにした。その研究内容を、申請者が筆頭著者・責任著者として2020年に



iScience に発表して、学術的な注目を集めた(左図)。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Sasaki Katsuhiko, Uchiumi Takeshi, Toshima Takahiro, Yagi Mikako, Do Yura, Hirai Haruka, Igami Ko, Gotoh Kazuhito, Kang Dongchon	4. 巻 40
2. 論文標題 Mitochondrial translation inhibition triggers ATF4 activation, leading to integrated stress response but not to mitochondrial unfolded protein response	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioscience Reports	6. 最初と最後の頁 BSR20201289
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1042/BSR20201289	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 Gotoh Kazuhito, Kunisaki Yuya, Mizuguchi Soichi, Setoyama Daiki, Hosokawa Kentaro, Yao Hisayuki, Nakashima Yuya, Yagi Mikako, Uchiumi Takeshi, Semba Yuichiro, Nogami Jumpei, Akashi Koichi, Arai Fumio, Kang Dongchon	4. 巻 23
2. 論文標題 Mitochondrial Protein Synthesis Is Essential for Terminal Differentiation of CD45 <sup>+</sup> TER119 <sup>+</sup> Erythroid and Lymphoid Progenitors	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 101654 ~ 101654
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2020.101654	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 Matsuda Shigeru, Yasukawa Takehiro, Sakaguchi Yuriko, Ichiyangi Kenji, Unoki Motoko, Gotoh Kazuhito, Fukuda Kei, Sasaki Hiroyuki, Suzuki Tsutomu, Kang Dongchon	4. 巻 8
2. 論文標題 Accurate estimation of 5-methylcytosine in mammalian mitochondrial DNA	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5801
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-24251-z	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 後藤和人, 康 東天	4. 巻 77
2. 論文標題 樹状細胞を活性化するミトコンドリア代謝の新たな仕組みの発見	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 バイオサイエンスとインダストリー	6. 最初と最後の頁 304-305
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 Gotoh Kazuhito, Morisaki Takafumi, Setoyama Daiki, Sasaki Katsuhiko, Yagi Mikako, Igami Ko, Mizuguchi Soichi, Uchiumi Takeshi, Fukui Yoshinori, Kang Dongchon	4. 巻 25
2. 論文標題 Mitochondrial p32/C1qbp Is a Critical Regulator of Dendritic Cell Metabolism and Maturation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 1800 ~ 1815.e4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2018.10.057	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5件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 佐々木 勝彦、後藤 和人、瀬戸山 大樹、伊神 恒、内海 健、康 東天
2. 発表標題 p32はLPS刺激によるインターロイキン6の量を調節し敗血症性ショックを予防する
3. 学会等名 第65回日本臨床検査医学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 後藤 和人
2. 発表標題 臨床検査と基礎研究の両立：検査部は今の検査を担い、臨床検査医学は将来の医学を担う
3. 学会等名 第65回日本臨床検査医学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 後藤 和人、内海 健、康 東天
2. 発表標題 樹状細胞の成熟化におけるミトコンドリアp32の役割
3. 学会等名 第65回 日本臨床検査医学会九州地方会 第31回 日本臨床化学会九州支部総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 後藤 和人, 康 東天
2. 発表標題 樹状細胞の成熟化におけるミトコンドリア p32 の役割とその創薬への方向性
3. 学会等名 第60回日本臨床化学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 後藤 和人 國崎 祐哉 康 東天
2. 発表標題 CD45陰性 TER119陰性 プロジェニター細胞から赤血球・Bリンパ球への分化におけるミトコンドリアp32の重要性
3. 学会等名 第67回日本臨床検査医学会学術集会
4. 発表年 2020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