

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16224

研究課題名(和文)ヘパトカインセレノプロテインPによる適応熱産生障害機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the mechanism of adaptive thermogenesis disorder by selenoprotein P

研究代表者

高山 浩昭(Takayama, Hiroaki)

金沢大学・医学系・技術職員

研究者番号：90725227

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)：セレノプロテインPが褐色脂肪組織での適応熱産生に与える影響を検討し、以下のことを明らかにした。

(1) セレノプロテインPが欠損したマウスは寒冷下での体温の上昇と活性型UCP1の増大を呈した。(2) セレノプロテインPを欠損した褐色脂肪細胞ではノルアドレナリン応答性の熱産生が亢進した一方、褐色脂肪細胞へのセレノプロテインP投与では熱産生が障害された。(3) 褐色脂肪細胞へのノルアドレナリン投与は熱産生を刺激する生理的な活性酸素産生を誘導した。セレノプロテインPはこの有用な活性酸素を消去した。本研究はセレノプロテインPが過剰な抗酸化能によって還元ストレスを惹起し熱産生を障害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

エネルギー代謝の亢進を介した肥満症治療を目的として、多くの研究者によって褐色脂肪組織の分化・活性制御機構の解明が試みられている。一方で2型糖尿病患者や高齢者においてはその熱産生活性が低下していることが知られており、またそのメカニズムは未だ明らかではない。本研究では、抗酸化タンパクとして知られていたセレノプロテインPが熱産生を刺激する生理的な活性酸素を消去することで熱産生障害を障害することを明らかにした。2型糖尿病や加齢に伴って産生が亢進するセレノプロテインPは、これらの病態と褐色脂肪活性抑制を結びつける分子となる可能性があり、持続的で効果的な慢性代謝疾患改善薬の治療標的となり得る。

研究成果の概要(英文)：We investigated the effect of selenoprotein P on adaptive thermogenesis in brown adipose tissue and clarified the following.

(1) Selenoprotein P deficient mice exhibited higher body temperature and accumulation of sulfenylated UCP1, which is an active form, during cold exposure. (2) Noradrenaline-responsive heat generation was enhanced in selenoprotein P-deficient brown adipocytes, whereas selenoprotein P administration to brown adipocytes impaired it. (3) Administration of noradrenaline to brown adipocytes induced physiological reactive oxygen species production that stimulates heat production. Selenoprotein P has eliminated this useful reactive oxygen species.

This study revealed that selenoprotein P induces reductive stress and impairs heat production due to its excessive antioxidant capacity.

研究分野：内分泌代謝内科

キーワード：セレノプロテインP 適応熱産生 還元ストレス

1. 研究開始当初の背景

申請者らはこれまでに、抗酸化分泌タンパクとして知られていたセレノプロテイン P (SeP) が 2 型糖尿病患者の肝臓で過剰に産生され肝臓および骨格筋でインスリン抵抗性を惹起すること (Misu et al. Cell Metabolism 2010)、骨格筋において受容体 LRP1 を介した過剰な抗酸化能によって運動療法抵抗性を惹起すること (Misu et al. Nature Medicine 2017) を明らかにした (図 1)。加えて、申請者らは、全身 SeP 欠損マウスが高脂肪高シヨ糖食下で有意に酸素消費量が亢進することを見いだしていたが、その機序は不明であった。

褐色脂肪細胞 (BAT) は非ふるえ熱産生の主要臓器である。近年、2 型糖尿病患者や肥満者において、BAT での熱産生能が低下していることが報告され注目を集めているが、その機序は解明されていない。最近、BAT 熱産生の主分子 UCP1 について、生理的条件下で酸化されることでむしろ活性が亢進すること、マウスへの過剰な抗酸化剤投与によりそのタンパク量が減少することが報告された。これらの報告は、適切な ROS 刺激が BAT 熱産生維持に重要であることを示唆する。しかしながら、生体内での抗酸化能の破綻が熱産生を障害するか否かは不明である。

以上の背景から、申請者は SeP が褐色脂肪細胞においてその抗酸化能を介して UCP1 活性を低下させ熱産生を障害するのではないかと着想した。申請者は予備的な検討で、全身 SeP 欠損マウスは急性寒冷刺激下で有意な低体温抵抗性を呈することを見いだした。

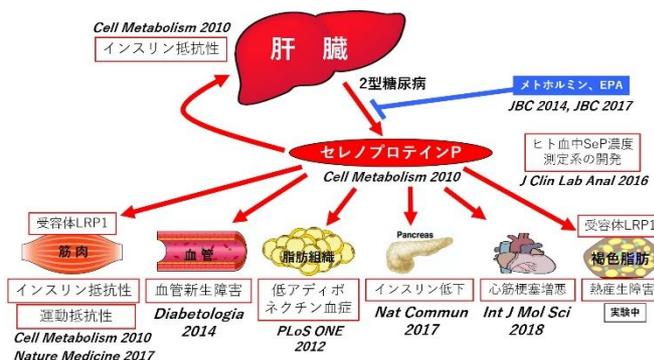


図 1. ヘパトカインの過剰分泌による糖尿病関連病態の発現

2. 研究の目的

SeP による適応熱産生障害機構の分子メカニズムを解明する。

3. 研究の方法

- (1) SeP 欠損マウスが高体温を示す機序を明らかにするため、寒冷刺激またはノルアドレナリン (NA) を負荷した SeP 欠損マウスの表現型を解析する。
- (2) 初代培養褐色培養細胞を用いて、SeP が褐色脂肪細胞において熱産生を抑制する分子機序を検討する。
- (3) BAT 特異的 SeP 欠損マウスを用いて、BAT 局所で発現する SeP が熱産生に及ぼす影響を検討する。

4. 研究成果

- (1) 全身 SeP 欠損マウスは 2 時間の 4℃ 寒冷刺激後に低体温抵抗性ならびに有意な血糖低下を呈した。また全身 SeP 欠損マウスでは NA 応答性の酸素消費が有意に亢進した。これらの表現型は抗酸化剤 N-acetylcysteine (NAC) の前投与により消失した。一連の結果は、全身 SeP 欠損マウスはノルアドレナリン感受性が亢進していること、その機序に酸化ストレスが関係することを示唆する。
- (2) 寒冷刺激を負荷した全身 SeP 欠損マウスの BAT では野生型マウスに比して酸化ストレスマーカーが上昇し、活性型とされるスルフェニル化 UCP1 の蓄積を認めた (図 2)。NAC の前投与は SeP 欠損マウスのスルフェニル化 UCP1 蓄積を低下させた (図 2)。これらの結果は、全身 SeP 欠損マウスの BAT で実際に酸化ストレスが亢進していることを示す。

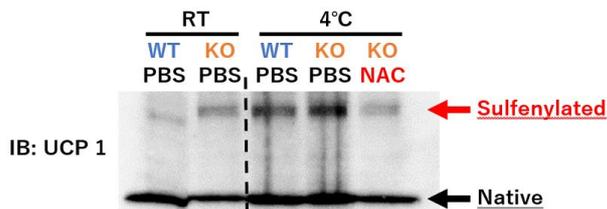


図 2. スルフェニル化 UCP1 の検出

- (3) 初代培養褐色脂肪細胞では、NA 処置により活性酸素 (ROS) 産生が増大した。この NA 応答性 ROS 産生は SeP または呼吸鎖複合体 II 阻害剤の前処置によって消失した。ミトコンドリア ROS 選択的プローブを用いた検討により、初代褐色脂肪細胞への NA 処置はミトコンドリア ROS を増大させることを確認した。このミトコンドリア ROS の増大は SeP 前処置により解除された。これらの結果は、NA 処置はミトコンドリアでの ROS 産生を増大すること、SeP はそれを抑制することを示唆する。

- (4) 細胞温度感知プローブを用いた検討において、NA 処置は初代褐色脂肪細胞の細胞温度を約 0.8 上昇させた。SeP 前処置によりこの温度上昇は消失した。
- (5) 培養褐色脂肪細胞において lipoprotein receptor related protein-1 (LRP1) をノックダウンすると SeP タンパクの取り込みが著明に抑制された (図 3)。
- (6) 培養褐色脂肪細胞への SeP 投与により、ミトコンドリア型 GPX とされる GPX4 の発現が亢進した。一方で細胞質型の GPX1 の発現に変化はなかった。GPX4 ノックダウンは SeP 処置による NA 誘導性 ROS 産生抑制ならびに熱産生障害を解除する一方、GPX1 のノックダウンでは解除されなかった。これらの結果は GPX4 が SeP 作用の鍵分子であることを示唆する。
- (7) FDG-PET 検査によって高い BAT 活性 (SUVmax > 3) を認めた健康成人男性 43 名では、BAT 活性 (SUVmax) と血中 SeP 濃度が負に相関した (図 4)。
- (8) 通常食下の C57BL/6 マウスにおいて、BAT では肝臓と比して 10-20% 程度の SeP 遺伝子発現を認めた。寒冷刺激によって BAT での SeP 発現が有意に低下する一方、肝臓での SeP 発現に変化はなかった。
- (9) 寒冷刺激下での肝特異的 SeP 欠損マウスの直腸温はコントロールマウスと有意な変化はなかった。一方で寒冷刺激下の BAT 特異的 SeP 欠損マウスの直腸温はコントロールマウスと比して高い傾向にあった。BAT 特異的 SeP 欠損マウスでは NA 投与後の BAT 温度上昇が有意に亢進した。加えて、SeP 発現を欠損した培養褐色脂肪細胞では、NA 誘導性のミトコンドリア ROS 産生ならびに細胞温度上昇が有意に亢進した。これらの結果は、BAT 局所での SeP 発現が熱産生に重要な役割を果たしていることを示唆する。

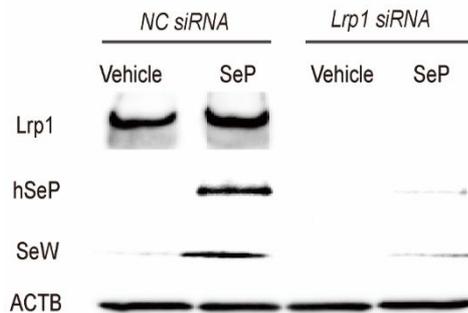


図 3. Lrp1 ノックダウンが SeP 取り込みに及ぼす影響

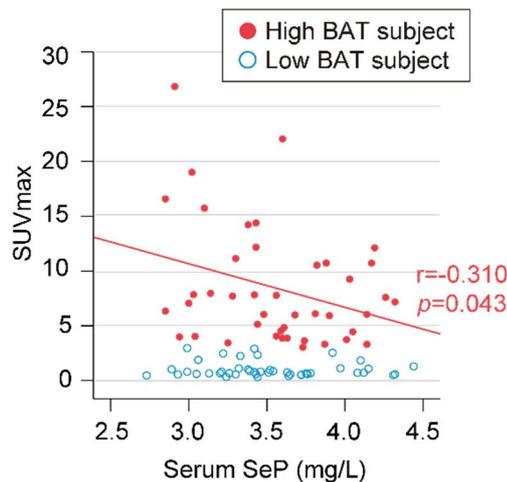


図 4. 血中 SeP と BAT 活性の相関

まとめ

本研究は、**BAT 熱産生に関連するレドックス制御生体内分子として SeP を同定した**(図 5)。本研究では、NA によってミトコンドリア ROS 産生が増大すること、SeP がその NA 誘導性 ROS を消去し熱産生を障害することを明らかにした。本研究では当初の予想に反し、BAT 局所で発現する SeP が熱産生制御に重要な働きをしていることを見いだした。本研究結果から、BAT 活性を制御する局所セレンリサイクリングモデルを着想した(図 5)。セレンは必須微量元素ではあるがセレンそのものは生体にとって非常に毒性が高い。一方で SeP は比較的安全な形態である。局所循環している SeP は、抹消組織での安全なセレン貯蔵に寄与し、GPX4 などの他のセレノプロテインファミリーに効率的にセレンを供給することで、局所の抗酸化状態の保持と細胞内への過剰な ROS 依存性シグナル伝達を防いでいると考えられる。

2 型糖尿病患者や高齢者においては BAT 熱産生が低下していることが知られている。しかしながら、これまでその機序は不明であった。2 型糖尿病や加齢に伴って産生が亢進する SeP は、これらの病態と褐色脂肪活性抑制を結びつける分子となる可能性がある。加えて、SeP 作用抑制薬は褐色脂肪を活性化させることで慢性代謝疾患を改善する新たな治療薬となる可能性がある。

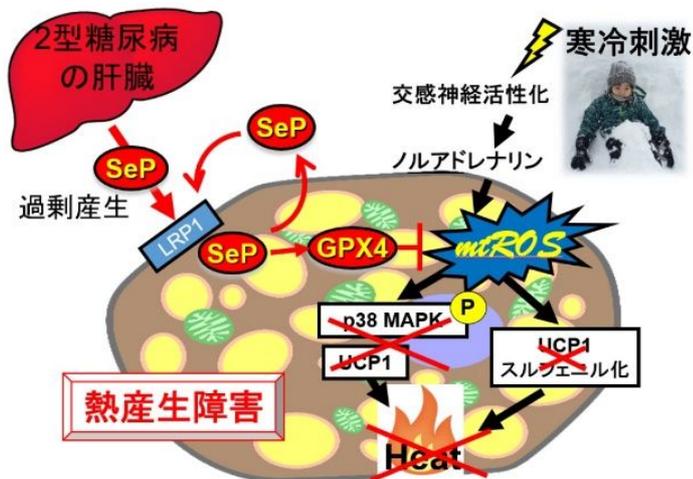


図 5. 過剰 SeP による BAT 熱産生障害

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 高山 浩昭, 御簾 博文, 斎藤 芳郎, 篁 俊成
2. 発表標題 抗酸化ヘパトカイン "セレノプロテインP"が惹起する 全身の糖尿病関連病態
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高山浩昭, SweMar Oo, 御簾博文, 斉藤昌之, 松下真美, 石井清朗, 篁俊成
2. 発表標題 抗酸化ヘパトカインセレノプロテインPはノルアドレナリン誘導性ミトコンドリアROSの抑制を介して褐色脂肪細胞熱産生を障害する
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 高山浩昭, Swe Mar Oo, 御簾博文, 斉藤昌之, 松下真美, 石井清朗, 篁俊成
2. 発表標題 抗酸化ヘパトカインセレノプロテインPによるミトコンドリアROS抑制を介した褐色脂肪細胞熱産生障害
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 Swe Mar Oo, 高山浩昭, 御簾博文, 石井清朗, 篁 俊成
2. 発表標題 Hepatokine selenoprotein P suppresses brown adipocyte thermogenesis by impairing adrenaline signalling
3. 学会等名 第91回日本内分泌学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 ヘパトカインSelenoprotein Pによるカテコラミン抵抗性を介した褐色脂肪細胞熱産生障害
2. 発表標題 高山浩昭, Swe Mar Oo, 御簾 博文, 石井清朗, 篁俊成
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 抗酸化ヘパトカインセレノプロテインPによるカテコラミン抵抗性を介した褐色脂肪細胞熱産生障害
2. 発表標題 高山浩昭, SweMar Oo, 御簾博文, 斉藤昌之, 松下真美, 石井清朗, 篁俊成
3. 学会等名 第39回日本肥満学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroaki Takayama, Swe Mar Oo, Hirofumi Misu, Kiyo-aki Ishii, Toshinari Takamura
2. 発表標題 Anti-oxidative hepatokine selenoprotein P impairs brown fat thermogenesis by suppressing mitochondrial ROS
3. 学会等名 Keystone Symposia Obesity and Adipose Tissue Biology (国際学会)
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
---------	---------