

令和 2 年 6 月 25 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16241

研究課題名(和文)細胞外マトリックスタンパクを介したインスリン感受性制御機構の解析

研究課題名(英文)The role of extracellular matrix protein in the regulation of insulin sensitivity

研究代表者

奥山 朋子(okuyama, tomoko)

横浜市立大学・附属病院・助教

研究者番号：90806928

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)：Fibulin-5 (Fbln5)は細胞外弾性線維形成に必須の分泌蛋白である。本研究ではFbln5欠損マウスを用いた解析により、細胞外マトリックス分子による糖代謝制御機構について検討した。Fbln5欠損マウスは体重非依存性のインスリン感受性亢進を呈し、高脂肪食誘導性の肥満および脂肪肝の改善を認めた。各種代謝臓器特異的(肝細胞、脂肪細胞、皮膚)なFbln5欠損マウスを樹立したが、いずれもインスリン感受性の変化は来たさなかった。以上より、Fbln5によるインスリン感受性制御機構として、細胞接着因子としての作用および血管弾性線維を介した機構等が想定された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では細胞外弾性線維関連分子によるインスリン感受性、エネルギー代謝制御機構について検討し組織周辺環境による代謝制御機構を提唱する。これまでインスリン感受性の責任臓器として、肝臓や骨格筋、脂肪組織などが代表と考えられてきたが、細胞外マトリックスによる制御については不明である。本研究により得られた知見は、メタボリックシンドロームの新たな分子機構の解明につながるものであり、糖尿病を始めとするメタボリックシンドロームの治療開発にも有用である。

研究成果の概要(英文)：Fibulin5 (Fbln5), a matricellular secretory protein, is essential for the development of elastic fibers. We investigated the role of extracellular matrix on glucose metabolism using Fbln5 knockout(Fbln5KO) mice. Fbln5KO mice showed enhanced insulin sensitivity independent of body weight gain. In addition, Fbln5-deficiency protected mice against high-fat diet-induced obesity and fatty liver. We established tissue-specific Fbln5KO mice (hepatocyte, adipocyte, skin). However those mice did not show altered insulin sensitivity compared with the control mice. In contrast, the intake of FITC-labeled insulin in the liver after administration via vena cava was increased in Fbln5KO mice. These results imply that Fbln5 regulate insulin sensitivity through vascular elastic fiber as well as a cell attachment.

研究分野：糖尿病、メタボリックシンドローム

キーワード：インスリン感受性 糖尿病 細胞外マトリックス

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

Fibulin-5(Fbln5)は弾性線維形成に必須の分泌蛋白であり、Fbln5 欠損マウスは弛緩性皮膚や肺気腫、肛門脱などを呈する。皮膚や肝臓の線維化のほか、心血管および脳血管疾患の病態への関与についても報告されているが、糖代謝や肥満の病態における役割は不明である。動物モデルおよびヒトにおいて Fbln5 は細胞接着・細胞増殖・細胞浸潤への作用が報告されており、各代謝臓器においても同様に機能性を有することが想定され、代謝制御に関与する可能性がある。我々は Fbln5 欠損マウスを入手しその表現型を解析したところ、体重非依存性のインスリン抵抗性の改善および週齢に伴う体重増加の抑制を呈した。さらに、Fbln5 欠損マウスは野生型マウスに比較し寒冷刺激に対する感受性が亢進していた。Fbln5 欠損マウスでは弾性線維の欠損により皮膚の脆弱性を呈するが、皮膚を介した多臓器との相互作用あるいはシグナル伝達、熱・水分制御の変化等から、皮膚の Fbln5 が一連の代謝変化を示す表現型に寄与していることが想定された。細胞外弾性線維が糖代謝に作用する分子機構を解明することは、糖尿病の新たな治療標的の構築に有用である。

### 2. 研究の目的

細胞外基質は生体内において細胞骨格形成・組織保持の役割を果たすのみならず、細胞外-細胞内シグナル、細胞間-細胞間シグナル、細胞接着等に関与することで様々な機能性を持つことが知られている。細胞外基質と糖代謝機構との相互作用に関しては、これまでに 1) インテグリン受容体を介したインスリン作用への関与、2) 肥満の病態における細胞外基質リモデリングによる構造的バリア構築による骨格筋・肝臓における糖・インスリン取り込みの障害と脂肪組織の肥大化、などが想定されている (Williams AS. et al. Trends Endocrinol Metab. 2015)。我々は細胞外弾性線維構成蛋白である Fbln5 を臍島におけるグルコキナーゼ活性化薬の標的分子として同定したが、Fbln5 欠損マウスを用いた解析により、Fbln5 が全身の代謝制御機構に強く関わっている可能性が示唆された。Fbln5 欠損マウスは脆弱性皮膚を呈すること、高脂肪食負荷により皮膚 Fbln5 の発現上昇を認めたこと、Fbln5 欠損マウスでは寒冷刺激への感受性が亢進していたこと、また Fbln5 の接着分子としての役割から皮膚に着目した。さらに、Fbln5 欠損により弾性線維に富む血管も脆弱性を示すことから、Fbln5 欠損マウスではインスリンの組織移行性が高い可能性も想定しており、これを検証することでインスリン作用と弾性線維の関連についても新たな知見につながると考えている。これまでインスリン抵抗性を来たす責任臓器として肝臓や筋・脂肪・血管内皮等が考えられてきたが、皮膚や血管弾性線維によるインスリン抵抗性の制御機構は不明である。これらの臓器における弾性線維のインスリン感受性への関与を解析することで、新たな糖尿病の病態解明が期待される。

他臓器との臓器連関を含め、これまで明らかにされてこなかった糖尿病・肥満を始めとする代謝異常における弾性線維の関与の解析は新たな糖尿病治療の標的として有用である。本研究では弾性線維と糖代謝の関連を解明し、細胞外弾性線維および組織の周辺環境と各種代謝制御機構との相互作用を提唱する。

### 3. 研究の方法

#### 1. Fbln5 欠損マウスの代謝に関する表現型解析

Fbln5 欠損マウスでは通常食にて体重非依存性にインスリン感受性が亢進し、高脂肪食誘導性の肥満、高インスリン血症、インスリン抵抗性、脂肪肝ならびに脂肪細胞の肥大化が抑制されることを確認している。各組織のインスリン感受性を解析するグルコースクランプでは Fbln5 欠損に

より全身のインスリン抵抗性の改善傾向を認めたことより、Fbln5 は全身の各臓器において代謝調節に関与していることが想定された。肝臓等のマイクロアレイやプロテオミクスによる網羅的解析を行い、Fbln5 欠損に伴う肝臓や脂肪の代謝経路の変化を評価していく。

## **2 . Fbln5 の各臓器における代謝制御機構**

Fbln5 欠損マウスは弛緩性皮膚を呈し、寒冷刺激への易感受性、脂肪組織における熱産生・脂肪酸燃焼関連遺伝子の発現上昇を呈し、これらの表現型は皮膚特異的 SCD-1 欠損マウス (Sampath H. et al. J Biol Chem. 2009) に酷似していた。さらに野生型マウスにおいて高脂肪食負荷により皮膚 Fbln5 の発現上昇を認め、Fbln5 欠損マウスでは高脂肪食負荷による皮膚 SCD-1 の発現誘導が顕著に抑制されていたことから、皮膚を介した全身の熱代謝調節機構の変化が Fbln5 欠損マウスの体重減少・肥満抑制に寄与している可能性が考えられた。皮膚における Fbln5 発現誘導と脂質合成や炎症を介したインスリン抵抗性への関与を想定し、Fbln5 欠損マウスの皮膚における脂肪酸組成と各種遺伝子発現変化の解析、皮膚特異的 Fbln5 欠損マウスの樹立および表現型の解析を進めている。今後 Fbln5 欠損マウスのエネルギー代謝解析を検討している。Fbln5 欠損マウスにおけるインスリン感受性改善の機構として、血管弾性線維の欠損から、各臓器へのインスリン透過性が亢進する可能性も想定される。標識インスリンを用いたインスリンの組織移行性の検討により血管弾性線維とインスリン感受性の関連についても検討を行っていく。また、高脂肪食負荷 Fbln5 欠損マウスの肝臓における表現型の変化が顕著であったことから、現在肝臓特異的 Fbln5 欠損マウスの作成も進めており、表現型の解析により Fbln5 の肝における作用を解明していく。

## **4 . 研究成果**

### **1 . Fbln5 欠損マウスの代謝に関する表現型解析**

高脂肪食負荷 Fbln5 欠損マウスおよび野生型マウスの肝組織を用いて、マイクロアレイを用いた網羅的解析を施行した。Fbln5 欠損により、肝臓における接着分子としてのシグナル、脂質代謝・コレステロール代謝の変化、ミトコンドリア機能の変化、炎症シグナルの変化等が示唆された。高脂肪食負荷 Fbln5 欠損マウスおよび野生型マウスの皮膚脂肪酸解析を施行したが、Fbln5 欠損による脂肪酸代謝の変化は明らかでなかった。現在 Fbln5 欠損マウスおよび野生型マウスの酸素消費量の解析を進めている。

### **2 . Fbln5 の各臓器における代謝制御機構**

各種 Cre 発現マウス (Alb-cre, Adiponectin-cre, KRT14-cre, Ins1-cre) および Fbln5-flox マウスを用いて、各代謝臓器特異的な Fbln5 欠損マウスを樹立し、表現型解析を行った。

肝細胞特異的 Fbln5 欠損マウス、脂肪細胞特異的 Fbln5 欠損マウス、皮膚 (表皮) 特異的 Fbln5 欠損マウスのいずれもインスリン感受性の変化や体重変化は呈さなかった。

膵細胞特異的 Fbln5 欠損マウスにおいては、耐糖能の増悪および膵細胞増殖の低下を認めた。以上より、Fbln5 によるインスリン感受性制御の責任臓器として、血管弾性線維や接着分子としての作用などが示唆された。今後血管平滑筋特異的な Fbln5 欠損マウスの樹立を検討する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 奥山 朋子、白川 純、寺内 康夫
2. 発表標題 臍島における細胞外マトリックス蛋白Fibulin-5の発現制御機構および機能解析
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会学術集会
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 奥山 朋子、白川 純、寺内 康夫
2. 発表標題 細胞外マトリックス分子Fibulin-5による臓器連関と代謝制御機構の解明
3. 学会等名 第56回日本臨床分子医学会学術集会
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 奥山 朋子、白川 純、寺内 康夫
2. 発表標題 弾性線維を介した糖代謝制御機構の解明
3. 学会等名 第92回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2018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
---------------------------	-----------------------	----