

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03709

研究課題名(和文) 脂肪細胞のインスリンシグナル障害による遠隔病理作用発現機構の解析

研究課題名(英文) Analysis of the mechanism of remote pathological effects caused by impaired insulin signaling in adipocytes

研究代表者

小川 渉 (Wataru, Ogawa)

神戸大学・医学研究科・教授

研究者番号：40294219

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：脂肪細胞におけるインスリン作用の障害が代謝に及ぼす影響を検討した。脂肪細胞特異的PDK1欠損マウスが全身のインスリン抵抗性と脂肪肝を発症し、脂肪細胞でPDK1に加え、Foxo1を欠損させると、これらの異常が改善することを見出した。PDK1の欠損はFoxo1の過剰活性化を通じて、5-lipoxygenase (5-LO)-leukotriene B4 (LTB4) 経路を活性化し、全身のインスリン抵抗性を引き起こす事が明らかとなった。また、脂肪細胞特異的LTA4H欠損マウスは脂肪細胞の健康的増大を引き起こし、インスリン抵抗性に対して抑制的に作用することも明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

インスリン抵抗性は、糖尿病のみならず、高血圧や脂質異常症、動脈硬化など様々な疾患の基盤病態であり、認知症や癌などの病態との関連も注目される。インスリン抵抗性を改善する薬剤は多くの疾患の治療に寄与する可能性があるが、既存の薬剤は十分な臨床ニーズを満たしていない。また、インスリン抵抗性関連疾患の中でも、NASHは今後、肝硬変や肝癌の最大の原因となる重要な疾患であり、治療薬の開発が期待されているが、発症の分子機構には不明な点も多い。今回、LTB4経路がインスリン抵抗性やその関連疾患の発症に関わることが明らかになったが、これらの発見は、新たな代謝疾患治療薬の開発に繋がる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We investigated the impact of impaired insulin action in adipocytes on metabolic homeostasis. We found that adipocyte-specific PDK1-deficient mice developed systemic insulin resistance and hepatic steatosis and that the deficient of Foxo1 in addition to PDK1 in adipocytes ameliorated these abnormalities. We have found that PDK1 deficiency activates the 5-lipoxygenase (5-LO)-leukotriene B4 (LTB4) pathway through overactivation of Foxo1 and triggers systemic insulin resistance. It was also revealed that adipocyte-specific LTA4H-deficient mice manifest so-called the phenotype of healthy adipose tissue expansion and are protected from insulin resistance.

研究分野：代謝学

キーワード：インスリン抵抗性 2型糖尿病 脂肪肝 LTB4

1. 研究開始当初の背景

インスリン抵抗性は、糖尿病のみならず、高血圧や脂質異常症、動脈硬化など様々な疾患の基盤病態であり、認知症や癌といった多彩な疾患との関連にも注目が集まっている。このためインスリン抵抗性を改善する薬剤は多くの疾患の治療に寄与する可能性があるが、既存の薬剤は効果や副作用などの点で十分な臨床ニーズを満たしていない。また、インスリン抵抗性関連疾患の中でも、NASH は今後、肝硬変や肝癌の最大の原因となる重要な疾患であり、治療薬の開発が期待されているが、発症の分子機構には不明な点も多い。

脂肪細胞はインスリンの主要な標的細胞であり、糖取り込みや脂肪合成の促進を始め、インスリンは脂肪細胞に様々な作用を発揮する。このような脂肪細胞でのインスリン作用が障害されれば、全身の各臓器の代謝にも悪影響が生じると考えられるが、脂肪細胞のインスリン作用の障害が全身の代謝に及ぼす影響は明らかではない。

2. 研究の目的

脂肪細胞のインスリン作用の障害が全身の代謝に及ぼす影響を明らかとし、インスリン抵抗性が関わる代謝疾患の分子機構や病態の理解を通じて、2型糖尿病を始めとした代謝異常症の新たな薬剤の開発に繋げることを目標とする。

3. 研究の方法

脂肪細胞特異的にインスリンシグナルに介入するマウスなど、各種の遺伝子改変動物を作出・活用し、脂肪細胞のインスリン作用やその障害が持つ生理的・病理的意義を明らかとする。

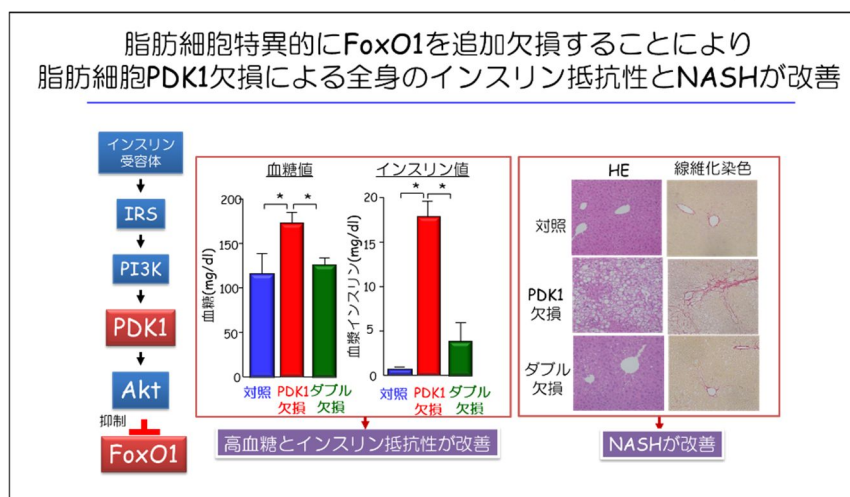
4. 研究成果

脂肪細胞特異的 PDK1 欠損マウスを用いた、脂肪細胞から発信される遠隔的病理作用の検討

インスリンシグナル伝達の要の分子である PDK1 を脂肪細胞特異的に欠損するマウス (A-PDK1KO マウス) を作成した。A-PDK1KO マウスでは、脂肪細胞の糖取り込みや脂肪合成の障害を呈し、脂肪組織重量は野生型の 50%程度に減少していた。A-PDK1KO マウスは高血糖、脂質異常及び、顕著な高インスリン血症を呈した。また A-PDK1KO マウスは 10 週令頃から肝臓に脂肪蓄積が見られ、36 週に亘って飼育すると、肝臓には風船様変性、間質線維化、炎症細胞浸潤が出現し、非アルコール性脂肪肝炎(NASH)様の病理象を示すことが明らかになった。

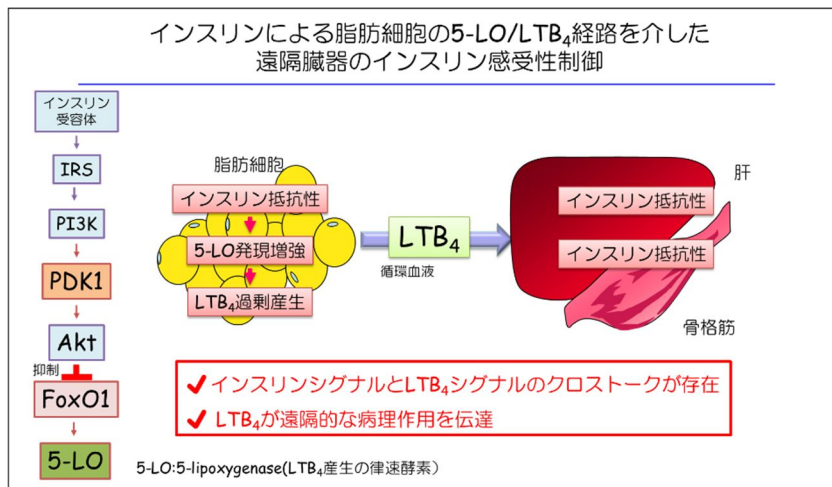
A-PDK1KO マウスでは転写因子 Foxo1 の活性が過剰になっていると考えられたため、脂肪細胞で PDK1 に加え、Foxo1 を欠損する脂肪細胞特異的 PDK1 Foxo1 二重欠損マウス (A-PDK1KO/Foxo1KO) を作成した。

A-PDK1KO/Foxo1KO マウスでは、A-PDK1KO マウスで認めた全身のインスリン抵抗性や NASH は認められなかったことから、Foxo1 の下流に全身のインスリン抵抗性と NASH を促す分子経路があると考えられた



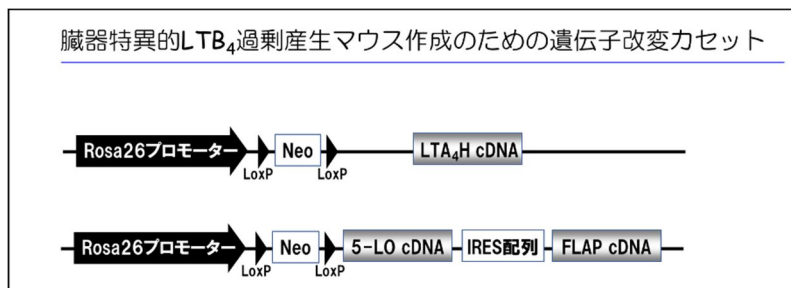
脂肪細胞のアディポネクチンやレプチン、炎症性サイトカインなどの発現は野生型マウスと A-PDK1KO マウスの間に差はなかったため、何らかの別の因子が脂肪細胞から他臓器への遠隔作用に関わると考えられた。そこで、野生型マウス、A-PDK1KO マウス、A-PDK1KO/Foxo1KO の脂肪組織の遺伝子発現と脂質メッダイエーターの網羅的解析を行ったところ、A-PDK1KO マウスでは leukotriene B₄ (LTB₄) の濃度の増加と LTB₄ 産生の律速酵素である 5-lipoxygenase (5-L0) の発現増加が認められ、PDK1KO/Foxo1KO マウスではそれらが改善することが明らかとなった。A-PDK1KO マウスの単離脂肪細胞や、野生型マウスの単離脂肪細胞に対する Foxo1 阻害剤の投与と実験などから、5L0 の遺伝子発現は Foxo1 によって直接制御されることが明らかとなった。5L0/LTB₄ 軸のインスリン抵抗性への関与を検討するため、A-PDK1KO マウスに 5-L0 阻害剤を投与したところ、インスリン抵抗性の改善が見られた。また、LTB₄ 受容体である BLT1 を欠損するマウスにおいて脂肪細胞で PDK1 を欠損させたところ、A-PDK1KO マウスに比べてインスリン抵抗性の程度は軽微であった。

以上により、脂肪細胞の PDK1 の欠損によりインスリンシグナルを遮断すると、Foxo1 の活性化を通じて 5-LO の発現が増強して LTB₄ が過剰に産生され、これにより全身のインスリン抵抗性と代謝異常が発症することが明らかとなった。本研究は、インスリンシグナルと leukotriene シグナルのクロストークについて初めて記述したものである。また、脂肪細胞から他臓器への遠隔的作用に LTB₄ が関与することも初めて明らかとした。LTB₄ 経路への介入は様々な代謝疾患の治療に応用できる可能性がある。



脂肪細胞特異的 LTA₄H 過剰発現マウスを用いた脂肪細胞の健康的増大機構の解析

これまでの検討により、脂肪細胞の LTB₄ 産生は代謝疾患の発症病理に深く変わると考えられたため、脂肪細胞に LTB₄ 産生に関わるタンパクを過剰発現させた際に、代謝にどのような影響が生じるか検討した。具体的には、Cre リコンビナーゼの存在下により ROSA26 プロモーターにより LTB₄ 産生律速酵素である 5-LO 及び 5-LO の活性化タンパクである FLAP を同時に発現させるマウス及び同様のプロモーター構造により、LTB₄ 産生の最終酵素である LTA₄H を発現させるマウスを作成した。これらのマウスをアディポネクチンプロモータ下に Cre にリコンビナーゼを発現するマウスと交配することにより、脂肪細胞特異的にこれらのタンパクを発現するマウスを作成した。



脂肪細胞特異的 LTA₄H 過剰発現マウス (A-LTA₄HOE マウス) では、脂肪組織の LTA₄H の発現量は野生型の 2 - 3 倍程度に増強していた。A-LTA₄HOE マウスは通常食飼育下では野生型マウスと比べて顕著な代謝表現型の変化は認められなかった。A-LTA₄HOE マウスを高脂肪食で飼育すると、野生型と比べて脂肪組織重量の増大は大きく、脂肪組織サイズも大きいことが明らかとなった。一方で、高脂肪食飼育下の A-LTA₄HOE マウスの脂肪組織の炎症関連遺伝子の発現は低く、PPAR を始めとした成熟脂肪細胞関連遺伝子の発現は増大していた。高脂肪食飼育下の A-LTA₄HOE マウスの血糖値は野生型マウスと差はなかったが、血清インスリン値は低く、インスリン感受性は野生型マウスより亢進していると考えられた。また、高脂肪食飼育によって誘導される脂肪肝の程度は、A-LTA₄HOE マウスは野生型より軽微であった。すなわち、A-LTA₄HOE マウスは、過剰エネルギー摂取下で、脂肪組織の増大の程度は大きいものの、異所性脂肪蓄積や代謝異常の発症が抑制される、いわゆる「脂肪組織の健康的増大」の表現型を示すことが明らかとなった。A-LTA₄HOE マウスの脂肪組織では M2 マクロファージ比率が増しており、脂肪組織はより抗炎症の状態にあると考えられた。質量分析により脂肪組織の脂質メディエタを網羅的に解析した結果、LTB₄ を含め、既知の炎症性・抗炎症性脂質メディエタの量には変化がなく、A-LTA₄HOE マウスの「脂肪組織の健康的増大」の表現型は、脂質メディエタとは独立した機序で生じると考えられた。LTA₄H は LTB₄ の産生を通じて、炎症惹起性に作用すると考えられるタンパクであるが、一般に炎症とは逆方向の現象と考えられていた「脂肪組織の健康的増大」の表現型が LTA₄H の過剰発現によって生じたことは想定外の結果であった。今後、LTA₄H が「脂肪組織の健康的増大」を惹起する機序を明らかになれば、代謝疾患治療薬の開発に寄与するものと思われる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Hosooka T, Hosokawa Y, Matsugi K, Shinohara M, Senga Y, Tamori Y, Aoki C, Matsui S, Sasaki T, Kitamura T, Kuroda M, Sakaue H, Nomura K, Yoshino K, Nabatame Y, Itoh Y, Yamaguchi K, Hayashi Y, Nakae J, Accili D, Yokomizo T, Seino Su, Kasuga M, Ogawa W	4. 巻 117
2. 論文標題 The PDK1-FoxO1 signaling in adipocytes controls systemic insulin sensitivity through the 5-lipoxygenase/leukotriene B4axis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 11674 ~ 11684
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1921015117	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

1. 著者名 Nabatame Yuko, Hosooka Tetsuya, Aoki Chikako, Hosokawa Yusei, Imamori Makoto, Tamori Yoshikazu, Okamatsu Ogura Yuko, Yoneshiro Takeshi, Kajimura Shingo, Saito Masayuki, Ogawa Wataru	4. 巻 12
2. 論文標題 Kruppel like factor15 regulates fuel switching between glucose and fatty acids in brown adipocytes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 1144-1151.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13511	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4件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Ogawa W
2. 発表標題 Insulin Signalling in Health and Diseases
3. 学会等名 IDF Congress 2019 Busan (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 細川友誠, 細岡哲也, 篠原正和, 小川渉
2. 発表標題 脂肪細胞特異的LTA4H過剰発現は脂肪組織の健康的増大を介して肥満による代謝障害発症を抑制する
3. 学会等名 第42回日本肥満学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今森真、細岡哲也、細川友誠、小川渉
2. 発表標題 脂肪組織のPDK1-FoxO1経路とNASHを繋ぐメカニズムの解明
3. 学会等名 第24回・第25回日本病態栄養学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今森真、細岡哲也、細川友誠、小川渉
2. 発表標題 脂肪組織のPDK1-FoxO1経路とNASHを繋ぐメカニズムの検討
3. 学会等名 第42回日本肥満学会
4. 発表年 2021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		
米国	Columbia University		