

令和 4 年 5 月 19 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06757

研究課題名(和文) 脂肪組織での熱産生と代謝調節におけるKATPチャネルの役割

研究課題名(英文) Roles of KATP channels on the regulation of heat production and metabolism in adipose tissues

研究代表者

李 恩瑛 (LEE, Eunyoung)

千葉大学・大学院医学研究院・助教

研究者番号：60583424

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：代謝センサー分子KATPチャネルの欠損(KO)マウスは、脂肪組織の糖取込み亢進と、肥満抵抗性を示す。しかし、KATPチャネルの脂肪組織の代謝調節における役割は不明である。本研究で、KOマウスが寒冷不耐性で、寒冷時の褐色脂肪組織のElovl6、Scd2、Pgc1aの発現誘導が減弱し、脳特異的KOマウスでも同様の所見を示すことから、脳のKATPチャネルが寒冷時の脂肪組織の代謝を調節することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

寒冷時の体温維持は生体の生命維持に必要な応答であり、健常人では寒冷環境下で脂肪組織の脂質代謝と熱産生が変化し、体温が維持される。KATPチャネルは様々な細胞の代謝センサーであるが、体温調節における役割は報告されていない。本研究の結果、KOマウスは寒冷不耐性を示し、脳のKATPチャネルが体温維持と脂質代謝制御に必須の分子であることが示された。体温制御の破綻は、エネルギー代謝疾患の発症とも密接に関係しており、KATPチャネルによる熱産生と脂肪代謝制御での役割解明は、糖尿病や肥満症などのエネルギー代謝疾患の病態の理解に有用であり、革新的治療薬の探索にも役立つ学術的な基盤となり得る。

研究成果の概要(英文)：KATP channel is a metabolic sensor that senses alteration in metabolism and regulates the electrical activity of various cell types. KATP channel-deficient mice (KO mice) exhibit the increased glucose uptake in the adipose tissues and obesity resistance against high fat diet. However, the role of KATP channel in the regulation of body temperature and lipid metabolism in adipose tissues remains unknown. In this study, we found that KO mice showed cold intolerance, and that cold exposure failed to induce mRNA expressions of the genes involved in fatty acid synthesis or modification (Elovl6 and Scd2) and a gene activated by parasympathetic nervous system (Pgc1a) in the brown adipose tissues of KO mice. In addition, the induction of these genes was also blunted in the brown adipose tissues of brain-specific KATP channel-deficient mice, indicating that KATP channel in the brain plays a significant role in controlling the metabolism in the brown adipose tissues under cold stress.

研究分野：医学

キーワード：脂肪組織 熱産生 脂肪酸代謝 ATP感受性K+チャネル 代謝恒常性

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現在、日本人の4人に1人は肥満であり、有効な治療法の確立が重要である。一方我々は以前、代謝センサーである K_{ATP} チャネルの遺伝子欠損マウスでは脂肪組織の糖取り込みが亢進していることを見出し、高脂肪食負荷時に肥満抵抗性を示すことも報告された。すなわち K_{ATP} チャネルの脂肪細胞の代謝調節への役割が示唆されたため、本研究で寒冷曝露時の熱エネルギー代謝制御における K_{ATP} チャネルの役割の解析を目指した。

2. 研究の目的

代謝センサー分子である K_{ATP} チャネルの欠損マウスは、脂肪組織の糖取り込みが亢進⁽¹⁾、高脂肪食負荷時に肥満抵抗性を示す⁽²⁾ことが報告されている。そこで我々は、 K_{ATP} チャネルが脂肪細胞の代謝調節に関与している可能性を考えた。脂肪組織の代謝応答を *in vivo* 実験で解析する手法として、マウスを寒冷曝露し、その際の体温変化や白色脂肪組織の褐色化応答がその評価に応用されることがある。

そこで我々はまず、寒冷曝露時の K_{ATP} チャネル欠損マウスの体温変化と脂肪組織での代謝変化の解析を行った。 K_{ATP} チャネル欠損マウスに寒冷刺激を加えたところ、8°Cの寒冷刺激に対し K_{ATP} チャネル欠損マウスでは、野生型マウスと比較し、より大きな体温低下を示すことが明らかになった。一方、8°Cの寒冷曝露の後、主要な熱産生臓器である褐色脂肪組織の熱産生分子である *Ucp1* の発現増加や、褐色脂肪細胞の形態変化は、野生型マウスと同等に誘導された。この結果から、 K_{ATP} チャネルは短期の強い寒冷刺激に対する早期の応答に寄与するものの、長期の応答には必須でないと示唆された。 K_{ATP} チャネルが寒冷曝露時の生体応答に関与することは国内外で全く報告されていない。さらに、 K_{ATP} チャネル欠損マウスは高脂肪食による肥満に抵抗性であるとの報告も合わせて考えると、 K_{ATP} チャネルが脂肪組織の代謝調節に関与し、肥満の誘導にもかかわっていると推測されるため、本研究でその機序の解明を目指した。

1) 寒冷刺激による代謝応答における K_{ATP} チャネルの役割の解明

K_{ATP} チャネル欠損マウスは寒冷不耐性ではあるものの、*Ucp1* の発現誘導は正常であった。このことから、寒冷曝露後の代謝応答に K_{ATP} チャネル依存性の経路と K_{ATP} チャネル非依存性の経路があることが示唆された。そこで我々はまず、これらを差別化することを目指した。そして、3日間 8°Cの寒冷曝露時の褐色脂肪組織では、 K_{ATP} チャネル欠損マウスでも多くの遺伝子が正常に発現誘導されたものの、いくつかの遺伝子は発現誘導されないことを発見した。そこで寒冷刺激時の種々の脂肪組織で白色脂肪細胞の褐色化に関わる遺伝子群および脂質代謝に関わる遺伝子の発現変化を比較検討し、脂肪組織での寒冷刺激による代謝応答に K_{ATP} チャネルがどの様に寄与しているかを解析した。

2) どの組織の K_{ATP} チャネルが寒冷応答を司るかの検討

白色脂肪細胞にも褐色脂肪細胞にも *Kir6.2* は発現していない。また、脂肪細胞では K_{ATP} チャネル活性を示さないことも以前報告されている。従って、 K_{ATP} チャネル欠損マウスにおける、寒冷曝露時の体温調節異常と特定遺伝子の発現誘導障害は、脂肪細胞以外の K_{ATP} チャネルが関与していると考えられた。そこで我々が最近樹立した組織特異的 K_{ATP} チャネル欠損マウス⁽³⁾を用いて、各組織に発現する K_{ATP} チャネルの寒冷応答への寄与を解析した。これらの解析により、 K_{ATP} チャネルの脂肪細胞の代謝調節機構を解明できれば、脂肪細胞の代謝を人為的に制御する新たな肥

満症治療の確立にも発展することが期待される。

3. 研究の方法

1) 寒冷曝露時の体温維持および褐色化関連遺伝子発現誘導における K_{ATP} チャンネルの役割の解明

(1) 寒冷曝露による体温維持機構の解析

ヒトやマウスなどの恒温動物では、外気温の変化にตอบสนองして熱産生が調節され、体温は極めて狭い範囲内に維持される。そこで、我々は野生型あるいは K_{ATP} チャンネル欠損マウスの体温を低温環境下で経時的に測定し、非拘束下の覚醒マウスでの直腸温を測定することにより寒冷耐性を評価した。さらに当初、実際に解析を行ったところ、多くのマウスが体温の急激な低下とともに死亡し、予定時間まで体温測定ができなかったことから、寒冷曝露の方法の再検討を行い、実験方法を修正し、解析をやり直した。

(2) 寒冷曝露による各種の脂肪組織での温度感受性遺伝子発現の解析

寒冷曝露に対し、生体は脂肪組織での熱産生を亢進させ、体温を維持する応答が誘導される。これらの応答には、①熱産生臓器である褐色脂肪組織における熱産生分子 *Ucp1* の発現増加や、②本来はエネルギー貯蔵器官である白色脂肪細胞の形質が変化し *Ucp1* の発現などの発現を伴うベージュ化や、③各脂肪組織で *de novo* lipogenesis に関与する遺伝子群の発現増加などが含まれる。そこで我々も、野生型あるいは K_{ATP} チャンネル欠損マウスを寒冷曝露し、様々な脂肪組織での遺伝子発現変化を qPCR 解析で解明した。

2) どの組織に発現する K_{ATP} チャンネルが寒冷応答に寄与しているかの解明

我々は既に、 K_{ATP} チャンネル欠損マウスでの脂肪組織の糖取り込み亢進を見出している。しかしながら、脂肪細胞には膵β細胞型の K_{ATP} チャンネルを構成する SUR1 や Kir6.2 は発現しておらず、また電気生理学的解析でも脂肪細胞には K_{ATP} チャンネル活性がないことが他者により報告されている。このことから、脂肪組織以外の細胞に発現する K_{ATP} チャンネルが糖取り込みの制御に寄与していると考えられた。さらにもし、脂肪組織の脂質代謝の異常が見られた際にも脂肪組織以外の細胞に発現する K_{ATP} チャンネルが寄与していると考えられる。そこで、我々が最近樹立した組織特異的 K_{ATP} チャンネル欠損マウスを用いて寒冷曝露時の体温変化や種々の脂肪組織での遺伝子発現を定量解析した。

4. 研究成果

1) 寒冷曝露時の体温維持および褐色化関連遺伝子発現誘導における K_{ATP} チャンネルの役割の解明

(1) 寒冷曝露による体温維持機構の解析

K_{ATP} チャンネル欠損マウスは高脂肪食負荷時に肥満抵抗性を示すことが報告されている。種々の遺伝子改変マウスの解析で、肥満抵抗性マウスはしばしば寒冷不耐性を示すことが報告されていることから、我々は K_{ATP} チャンネル欠損マウスを寒冷曝露し体温の変化を測定した。この目的で、マウスの寒冷曝露実験に特化された専用のマウス飼育チャンバー（シンファクトリー社製、HC-10）を購入し、実験条件の設定を行った。すると、 K_{ATP} チャンネル欠損マウスは寒冷曝露後に著明な体温低下を示し（図1）、 K_{ATP} チャンネルは寒冷曝露時の体温制御に重要な役割を果たしていることが示された。

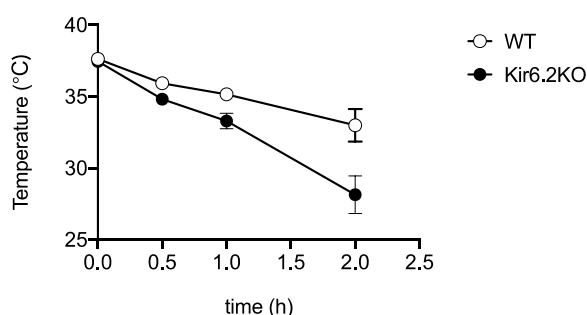


図1 K_{ATP} チャンネル欠損マウスの寒冷曝露時の体温変化

(2) 寒冷曝露による各種の脂肪組織での温度感受性遺伝子発現の解析

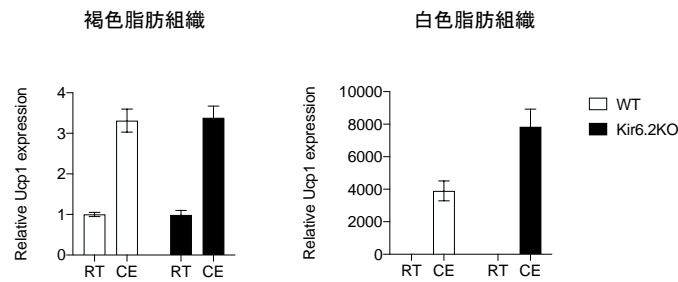


図2 寒冷曝露時のUcp1の発現誘導

K_{ATP} チャンネル欠損マウスの寒冷応答の障害を評価する目的で、寒冷曝露時の白色脂肪組織の褐色化を確認した。すると、予想に反して K_{ATP} チャンネル欠損マウスでも野生型マウスと同様の褐色化の組織形態学的変化が誘導され、発熱分子である Ucp1 の発現も褐色脂肪組織でも皮下白色脂肪組織でも両マウス間で同等の発現誘導が見られた (図 2)。我々はさらに、寒冷曝露時の白色脂肪組織の褐色化に寄与する遺伝子

群の mRNA 発現を解析した。すると、Ucp1 の発現誘導と同様に、寒冷曝露による *Cidea*、*Kcnk3*、*Prdm16*、*Mtus1* などの褐色化関連遺伝子の発現誘導は両マウス間でほとんど差を認めなかった

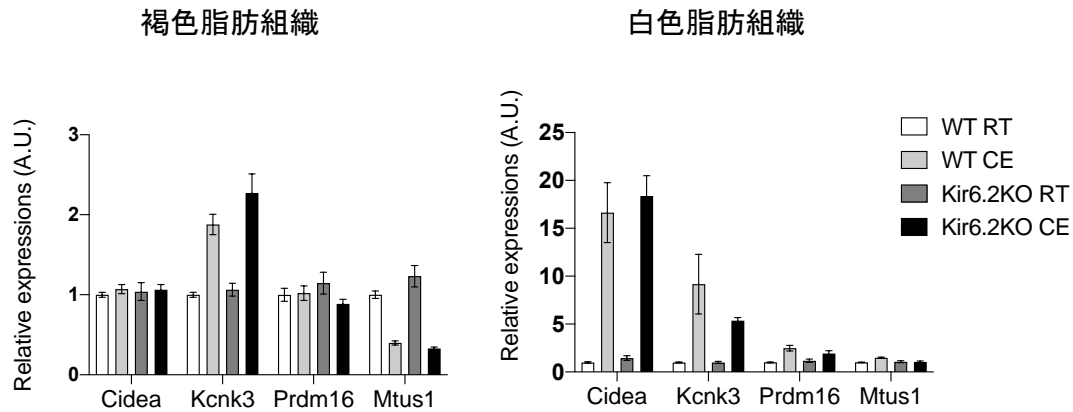


図3 寒冷曝露時の褐色化関連遺伝子の発現誘導

(図 3)。このことから、 K_{ATP} チャンネルは寒冷曝露時の白色脂肪組織褐色化には必須の分子ではないことが明らかになった。

現在までに、肥満抵抗性と寒冷不耐性を示す遺伝子改変マウスが複数報告されている。我々は特に、脂肪酸合成酵素である *Elovl6* と脂肪酸不飽和化酵素である *Scd1* の遺伝子欠損マウスはともに肥満抵抗性と寒冷不耐性を示すことに着目し、脂肪酸代謝関連の遺伝子群 (*Fasn*、*Elovl6*、*Scd1*、*Scd2*) の寒冷曝露時の発現変化を解析した (図 4)。すると、野生型マウスの皮下白色脂肪

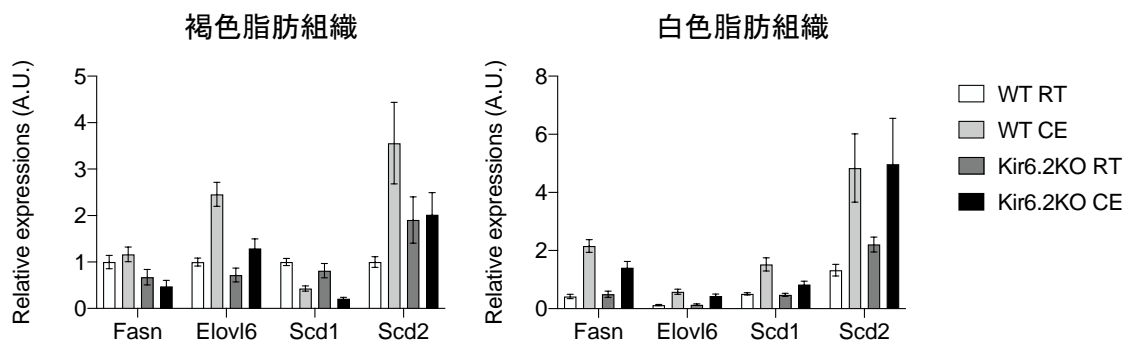


図4 寒冷曝露時の脂肪酸代謝関連遺伝子の発現誘導

組織では寒冷によるこれらの遺伝子発現誘導が見られたが、 K_{ATP} チャンネル欠損マウスではこれらの誘導が减弱していた。一方、褐色脂肪組織では野生型マウスでは *Elovl6* と *Scd2* の発現は誘導されたが、 K_{ATP} チャンネル欠損マウスでは减弱していた。これらの結果から、 K_{ATP} チャンネルは寒冷曝露時のいくつかの遺伝子発現誘導に必須の役割を果たしていることが明らかになった。

2) どの組織に発現する K_{ATP} チャンネルが寒冷応答に寄与しているかの解明

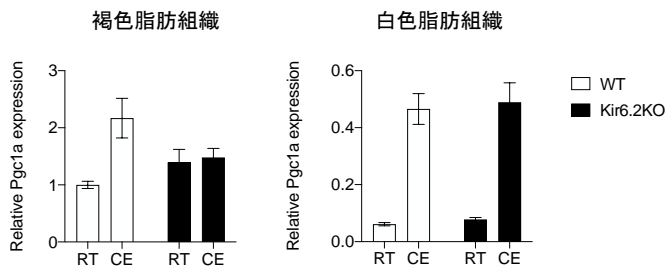


図5 寒冷曝露時のPgc1aの発現誘導

曝露により、野生型マウスでは白色脂肪組織でも褐色脂肪組織でも発現が誘導されたが、 K_{ATP} チャンネル欠損マウスでは褐色脂肪組織での *Pgc1a* の発現誘導のみが減弱していた。このことから、褐色脂肪組織での *Pgc1a* の発現誘導に K_{ATP} チャンネルが必要であることが明らかになった。

このことから脳の K_{ATP} チャンネルが寒冷曝露時の体温維持や脂質代謝酵素の発現誘導を制御している可能性が考えられた。そこで、脳特異的 K_{ATP} チャンネル欠損マウスを作製し、寒冷曝露時の体温調節と脂肪組織での遺伝子発現を解析したところ、脳特異的 K_{ATP} チャンネル欠損マウスで寒冷不耐性が観察された。一方、寒冷曝露時の遺伝子発現誘導は褐色脂肪組織での *Pgc1a* と *Scd2* の発現誘導が消失していたものの、*Fasn*、*Elovl6*、*Scd1* の発現誘導は脳特異的 K_{ATP} チャンネル欠損マウスでも保たれており、脳以外の K_{ATP} チャンネルによる複雑な制御が考えられた (図6)。

以上の結果から、脳の K_{ATP} チャンネルは寒冷曝露時の体温維持や脂質代謝制御に必須の役割を果

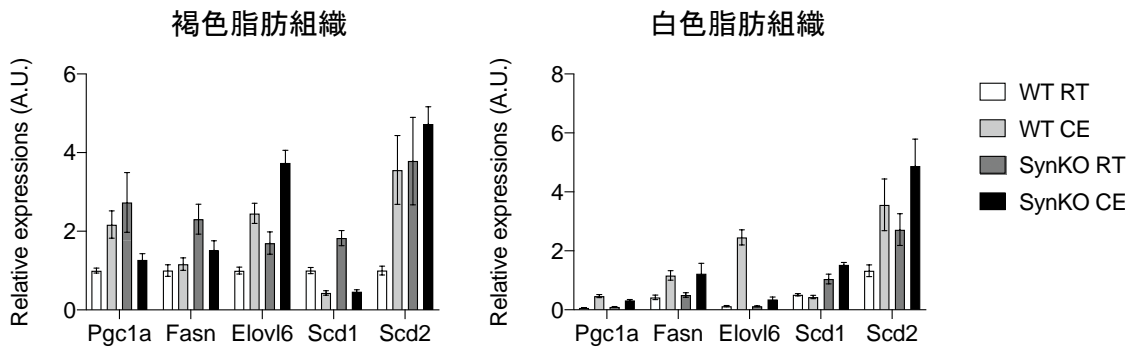


図6 脳特異的KOマウスにおける寒冷曝露時の脂質代謝関連遺伝子発現誘導

たしていることが明らかになった。環境変化時の生体の恒常性維持への K_{ATP} チャンネル役割の解明は、体温異常や肥満症などのエネルギー代謝疾患が破綻した病態の理解に極めて有用であり、その治療薬の探索にも役立つ学術的な基盤となり得ることから、今後より詳細な制御機構の解明を進める必要があると考えられる。

参考文献

1. Miki, T., Minami, K., Zhang, L., Morita, M., Gono, T., Shiuchi, T., Minokoshi, Y., Renaud, J.M. and Seino, S. (2002) ATP-sensitive potassium channels participate in glucose uptake in skeletal muscle and adipose tissue. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 283, E1178-84.
2. Alekseev AE, Reyes S, Yamada S, Hodgson-Zingman DM, Sattiraju S, Zhu Z, Sierra A, Gerbin M, Coetzee WA, Goldhamer DJ, Terzic A, Zingman LV. (2010) Sarcolemmal ATP-sensitive K^+ channels control energy expenditure determining body weight. *Cell Metab.* 11:58-69.
3. Oduori OS, Murao N, Shimomura K, Takahashi H, Zhang Q, Dou H, Sakai S, Minami K, Chanclon B, Guida C, Kothegala L, Tolö J, Maejima Y, Yokoi N, Minami Y, Miki T, Rorsman P, Seino S. (2020). Gs/Gq signaling switch in β cells defines incretin effectiveness in diabetes. *J Clin Invest.* 130(12):6639-6655.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Li J, Zhang Y, Ye Y, Li D, Liu Y, Lee E, Zhang M, Dai X, Zhang X, Wang S, Zhang J, Jia W, Zen K, Vidal-Puig A, Jiang X, Zhang CY.	4. 巻 10
2. 論文標題 Pancreatic cells control glucose homeostasis via the secretion of exosomal miR-29 family.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Extracell Vesicles.	6. 最初と最後の頁 e12055
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/jev2.12055.	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 Wada, M., Yukawa, K., Ogasawara, H. Suzawa, K., Maekawa, T., Yamamoto, Y., Ohta, T., Lee, E., Miki, T.	4. 巻 24
2. 論文標題 GPR52 accelerates fatty acid biosynthesis in a ligand-dependent manner in hepatocytes and in response to excessive fat intake in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 102260
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2021.102260.	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 Lee Eunyoung, Miedzybrodzka Emily L., Zhang Xilin, Hatano Ryo, Miyamoto Junki, Kimura Ikuo, Fujimoto Kosuke, Uematsu Satoshi, Rodriguez-Cuenca Sergio, Vidal-Puig Antonio, Gribble Fiona M., Reimann Frank, Miki Takashi	4. 巻 20
2. 論文標題 Diet-Induced Obese Mice and Leptin-Deficient Lepob/ob Mice Exhibit Increased Circulating GIP Levels Produced by Different Mechanisms	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 4448 ~ 4448
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms20184448	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 Lee Eunyoung, Zhang Xilin, Noda Tomoe, Miyamoto Junki, Kimura Ikuo, Tanaka Tomoaki, Sakurai Kenichi, Hatano Ryo, Miki Takashi	4. 巻 22
2. 論文標題 Lecithin Inclusion by α -Cyclodextrin Activates SREBP2 Signaling in the Gut and Ameliorates Postprandial Hyperglycemia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 10796 ~ 10796
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms221910796	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11件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 張錫麟、波多野亮、李恩瑛、金田篤志、三木隆司
2. 発表標題 レーザーマイクロダイセクション法による膵島再生の分子機構の解明
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 三木隆司、波多野亮、張錫麟、陳雪、馬玉潔、金田篤志、李恩瑛
2. 発表標題 膵 細胞再生の分子機構
3. 学会等名 令和2年度生理研研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Mitsuo Wada, Kayo Yukawa, Hiroyuki Ogasawara, Koichi Suzawa, Tatsuya Maekawa, Yoshihisa Yamamoto, Takeshi Ohta, Eunyoung Lee, Takashi Miki.
2. 発表標題 Regulation of fatty acid biosynthesis in liver through GPR52 signaling.
3. 学会等名 第98回日本生理学会 the 98th Annual Meeting of The Physiological Society of Japan
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 波多野亮、張錫麟、馬玉潔、陳雪、李恩瑛、金田篤志、三木 隆司
2. 発表標題 膵 細胞傷害モデルマウスを用いた膵島再生機構の解析
3. 学会等名 日本薬学会大会第141回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ryo Hatano, Xillin Zhang, Chen Xue, Eunyoung Lee, Atsushi Kaneda, Takashi Miki
2. 発表標題 Investigation of molecular mechanisms in pancreatic cell regeneration using -cell-specific injured mice
3. 学会等名 第98回日本生理学会 the 98th Annual Meeting of The Physiological Society of Japan
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Eun-Young Lee, Xilin Zhang, Junki Miyamoto, Ikuo Kimura, Ryo Hatano, Takashi Miki
2. 発表標題 Distinct mechanism for the elevation of plasma glucose-dependent insulinotropic polypeptide by high-fat-diet and by leptin-deficiency
3. 学会等名 55th EASD Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 李恩瑛
2. 発表標題 肥満における高GIP血症の発症機序
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 李恩瑛、張錫麟、宮本潤基、木村郁夫、波多野亮、三木隆司
2. 発表標題 脂肪組織の代謝シグナルによる糖調節機構
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三木隆司、李恩瑛、宮本潤基、木村郁夫
2. 発表標題 腸管内の栄養素感知とインクレチン分泌制御
3. 学会等名 生体機能と創薬シンポジウム2019 / 日本薬学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 波多野亮, 高山実樹子, 川口高德, 福富俊之, 木村徹, 櫻井裕之, 李恩瑛, 三木隆司, 浅野真司
2. 発表標題 エズリンの腎近位尿管における膜タンパク質の局在制御と溶質再吸収調節機構
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Xue Chen, Xilin Zhang, Ryo Hatano, Yujie Ma, Atsushi Kaneda, Eunyong Lee, Takashi Miki
2. 発表標題 Adult murine pancreatic b cells retain repetitive proliferation capacity in a diphtheria toxin mediated cell ablation model
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>千葉大学大学院 医学研究院 代謝生理学 http://www.m.chiba-u.ac.jp/class/physiol/index.html 千葉大学大学院医学研究院代謝生理学 研究室ホームページ http://www.m.chiba-u.ac.jp/class/physiol/index.html</p>

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	三木 隆司 (MIKI Takashi) (50302568)	千葉大学・大学院医学研究院・教授 (12501)	
研究分担者	波多野 亮 (HATAN0 Ryo) (60521713)	千葉大学・大学院医学研究院・助教 (12501)	

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