

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08974

研究課題名(和文)代謝リモデリングによるベージュ細胞誘導メカニズムの解明

研究課題名(英文) Mechanism of white adipose tissue beiging through the modulation of glycolysis

研究代表者

吉田 陽子 (Yoshida, Yohko)

順天堂大学・大学院医学研究科・特任准教授

研究者番号：00586232

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)：本研究の目的は、1)解糖系の制御により内臓脂肪組織でベージュ細胞が誘導される機序を解明すること、2)細胞自律的なベージュ化の分子機序を明らかにし、糖尿病や心不全などの代謝リモデリングが生じる病態において、ベージュ細胞の誘導による新規治療法を確立すること、であった。遺伝子改変マウスモデルを用いた検討により、脂肪組織で解糖系を阻害することにより内臓脂肪組織でベージュ細胞が誘導されることがわかった。さらに詳細に検討した結果、解糖系を阻害すると分枝鎖アミノ酸が増加し、mTOR経路が活性化されることでオートファジーが抑制されベージュ化が促進されることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は脂肪組織での解糖系を抑制することでオートファジーの抑制を介して褐色脂肪様細胞(ベージュ細胞)を誘導するというベージュ細胞誘導の新たなメカニズムを明らかにしたものである。全世界で肥満人口は増えており、肥満や糖尿病は健康寿命の短縮や死亡率の上昇につながるため、これらに対する新たな治療法の開発は重要な課題である。本研究結果により、内臓白色脂肪をベージュ化し、代謝の活発な形質に転換できる可能性が示唆され、これまでにないアプローチから代謝性疾患の治療法が開発できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Brown adipose tissue (BAT) is a metabolically active organ that contributes to the thermogenic response to cold exposure. In addition, other thermogenic cells termed beige adipocytes are generated in white adipose tissue (WAT) by cold exposure. Although activation of brown/beige adipose tissue is associated with mobilization of both glucose and lipids, few studies have focused on the role of glycolytic enzymes in regulating adipose tissue function. We generated mouse models with specific deletion of the glycolytic enzyme phosphoglycerate mutase 1 (PGAM1) from adipose tissue. Deletion of Pgam1 from both BAT and WAT promoted whitening of BAT with beiging of visceral WAT, whereas deletion of Pgam1 from BAT alone led to whitening of BAT without beiging of WAT. Our results demonstrate a potential role of glycolytic enzymes in beiging of visceral WAT and suggest that PGAM1 would be a novel therapeutic target in obesity and diabetes.

研究分野：循環器内科学

キーワード：ベージュ細胞 解糖系 内臓白色脂肪 糖代謝異常

1. 研究開始当初の背景

肥満や糖尿病により健康寿命の短縮や全死亡率が上昇するため、これらの病態を解明することは極めて重要である。これまで我々は、肥満や糖尿病、心不全時に白色内臓脂肪が老化することで全身のインスリン抵抗性が生じ、これらの老化関連疾患の病態が負に制御されることを明らかにしてきた (*Cell Metab* 2013, 2012, *J Clin Invest* 2010, *Nat Med* 2009)。褐色脂肪組織はかつて主に乳幼児に存在する熱産生器官として認識されてきたが、今日では、成人にも存在し全身の代謝を制御する可能性を秘めた臓器であることがわかってきた。加齢や肥満により褐色脂肪の機能が低下する分子機序は不明であったが、我々は以前、肥満時には低酸素を介したシグナルによりミトコンドリア数が減少することで褐色脂肪組織の「白色化」と機能不全が進行し、全身の糖代謝異常が生じることを明らかにした (*J Clin Invest* 2014)。肥満のみならず加齢に伴い褐色脂肪が機能不全に陥ることはヒトや動物実験で報告されているが、機能不全に陥った褐色脂肪ではミトコンドリア不全が生じ、細胞代謝がミトコンドリア呼吸から解糖系にシフトしていると考えられた。褐色脂肪研究は、主に褐色脂肪細胞のエネルギー消費に着目した研究が精力的に行われているが、褐色脂肪細胞自体のエネルギー代謝に着目した研究は殆ど存在していなかった。予備的検討の結果、脂肪組織特異的解糖系阻害マウスでは褐色脂肪の白色化と機能不全が生じ、全身のエネルギー消費量が低下すること、このマウスでは褐色脂肪が機能不全に陥る一方で、白色内臓脂肪組織が著しく褐色化(ベージュ化)し、全身の熱産生能が維持されることがわかった。ベージュ細胞は白色脂肪組織から誘導される細胞であるが、ミトコンドリアに富み高いエネルギー消費能をもつことから、肥満や糖尿病などの代謝性疾患においてベージュ細胞を効果的に誘導することで、これらの疾患に対する新たな治療法となる可能性を大いに秘めた細胞である。本研究により、これまで全く知られていなかったベージュ細胞の誘導機序が明らかとなり、代謝性疾患に対する新たな治療コンセプトを創出できる可能性が高いと考えられた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、

- (1) 解糖系制御により内臓脂肪組織でベージュ細胞が誘導される機序を解明すること
- (2) 内臓脂肪などのベージュ化が困難であった組織に全く新しい方法でベージュ細胞を誘導し、全身の代謝異常を伴う病態に次世代の治療法を開発すること、であった。

3. 研究の方法

(1) 解糖系阻害マウスモデルにおける表現型の検証

Adipoq Cre マウスと floxed Pgam1 マウスを掛け合わせることで脂肪組織特異的 Pgam1 ノックアウト(KO)マウス(Adipo-Pgam1 CKO)を作製する。また Ucp1 Cre マウスと floxed Pgam1 マウス、を掛け合わせることで褐色脂肪特異的 Pgam1 KO マウス(Ucp1-Pgam1 CKO)を作製する。これらの解糖系阻害マウスを用いて、熱産生能やエネルギー消費量の評価を行い、また耐糖能やCTによる内臓脂肪量の変化などの表現型を解析する。

(2) 解糖系阻害により内臓脂肪でベージュ細胞が誘導される分子機序の解明

遺伝子改変マウスを用いたベージュ細胞誘導機序の検討

上述の遺伝子改変マウスの主要代謝臓器サンプルを用いて、Western blot、免疫染色、qPCR、電子顕微鏡等による解析を行う。白色脂肪および褐色脂肪組織を中心とする主要代謝臓器を用いて、マイクロアレイ解析やメタボローム解析を行い、脂肪組織での解糖系阻害が内臓脂肪組織のベージュ化を誘導する分子機序を明らかにする。その他本仮説の検証に必要なあらゆる分子細胞生物学的手法を用いた解析を行う。

白色脂肪細胞株を用いたベージュ細胞誘導機序の解明

Pgam1 を標的とする shRNA を発現するアデノ随伴ウイルスを用いて、白色脂肪細胞株(3T3-L1 細胞)の Pgam1 をノックダウンし表現型を解析する。予備実験において、Pgam1 をノックダウンした 3T3-L1 細胞では有意にベージュ様細胞への分化が誘導され、ベージュ細胞に特徴的な遺伝子プロファイルを呈することを確認している。また上記(2) の網羅的解析から得られたベージュ細胞誘導の鍵因子の候補をベージュ細胞に導入またはノックダウンなどを行うことによりベージュ細胞誘導の分子機序を解明する。

4. 研究成果

(1) 脂肪特異的 Pgam1 欠損マウスの表現型解析

脂肪特異的 Pgam1 欠損マウスを作出し代謝形質について検討したところ、本マウスでは野生型と比べ、全身のエネルギー消費量が低下し、耐糖能が低下していることがわかった。一方で熱産生能は野生型比で増加していた。病理学的検討などを行ったところ、本マウスでは褐色脂肪組織が白色化し機能低下が示唆されたのに対し、内臓白色脂肪組織では褐色脂肪様細胞(ベージュ細胞)が増加し、褐色脂肪/ベージュ細胞のマーカーである Ucp1(Uncoupling protein-1)や Cpt1b(Carnitine

palmitoyltransferase 1b)が増加していた。メタボローム解析やマイクロアレイ解析にても褐色脂肪組織では解糖系、TCA回路、酸化リン酸化の経路が一般的に低下しているのに対し、内臓白色脂肪ではこれらが増加(活性化)しており、この内臓白色脂肪組織におけるベージュ化誘導により、熱産生能が代償されている可能性が示唆された。(Fig.1)

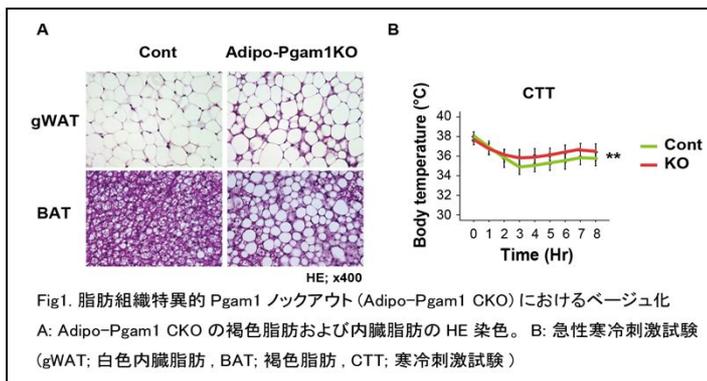


Fig1. 脂肪組織特異的 Pgam1 ノックアウト (Adipo-Pgam1 CKO) におけるベージュ化
A: Adipo-Pgam1 CKO の褐色脂肪および内臓脂肪の HE 染色。B: 急性寒冷刺激試験 (gWAT; 白色内臓脂肪, BAT; 褐色脂肪, CTT; 寒冷刺激試験)

(2)褐色脂肪特異的 Pgam1 欠損マウスの表現型解析

脂肪特異的 Pgam1 欠損マウスを作出し代謝形質について検討したところ、本マウスでは野生型と比べ、全身のエネルギー消費量が低下し、耐糖能が低下しており、熱産生能も低下していた。また病理学的解析等の結果、褐色脂肪組織の白色化や褐色脂肪マーカーの低下はあるものの、内臓白色脂肪ではベージュ化は見られなかったことから、Pgam1 欠損によるベージュ細胞誘導は白色脂肪組織における Pgam1 欠損が重要であると考えられた。

(3)ベージュ細胞誘導の分子機序

白色脂肪細胞の解糖系抑制によるベージュ細胞誘導の分子機序を解明するため、脂肪特異的 Pgam1 欠損マウスの内臓白色脂肪組織を用いてメタボローム解析を行ったところ、バリン、ロイシン、イソロイシンといった分枝鎖アミノ酸が増加していることがわかった。さらに本モデルマウスの白色脂肪組織や培養白色脂肪細胞を用いて詳細に検討した結果、Pgam1 の欠損により増加した分枝鎖アミノ酸が mTOR 経路の活性化を介してオートファジーを抑制することで白色脂肪のベージュ化を誘導することが示唆された。(Fig.2)

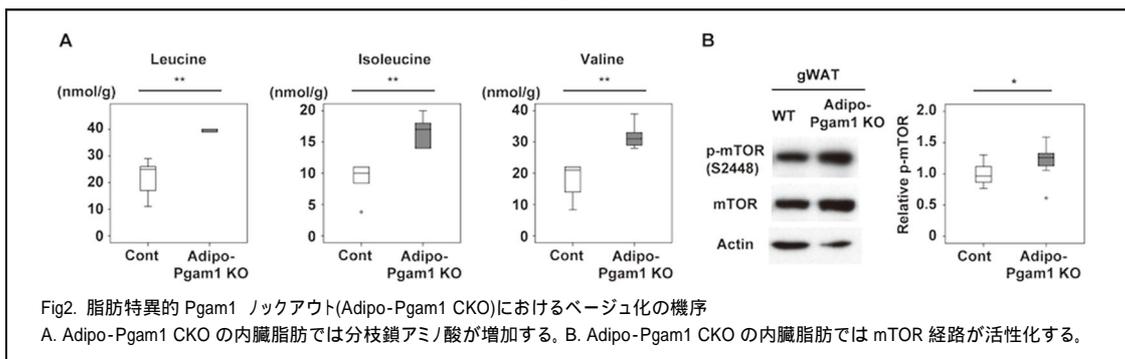


Fig2. 脂肪特異的 Pgam1 ノックアウト(Adipo-Pgam1 CKO)におけるベージュ化の機序
A. Adipo-Pgam1 CKO の内臓脂肪では分枝鎖アミノ酸が増加する。B. Adipo-Pgam1 CKO の内臓脂肪では mTOR 経路が活性化する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yohko Yoshida, Ippei Shimizu, Yung-Ting Hsiao, Masayoshi Suda, Goro Katsuumi, Masahide Seki, Yutaka Suzuki, Shujiro Okuda, Tomoyoshi Soga, and Tohru Minamino	4. 巻 25
2. 論文標題 Differing impact of phosphoglycerate mutase 1-deficiency on brown and white adipose tissue	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 104268
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2022.104268	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0件

〔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
研究分担者	清水 逸平 (Shimizu Ippei) (60444056)	新潟大学・医歯学総合研究科・特任准教授 (13101)	
研究分担者	南野 徹 (Minamino Tohru) (90328063)	新潟大学・医歯学系・教授 (13101)	

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
---------	---------