

機関番号：82610

研究種目：若手研究（B）

研究期間：平成20年度～平成22年度

課題番号：20790316

研究課題名（和文）ACTHによる生体防御機構の解明

研究課題名（英文）The analysis of ACTH receptor deficient mice

研究代表者

千田 大 (DAI CHIDA)

国立国際医療研究センター・研究所・室長

研究者番号：90312842

研究成果の概要（和文）：

MC2R KO マウスをモデル系として、グルココルチコイドの糖代謝への影響の検討し、MC2R KO マウスが、高齢で痩せを呈する事、高脂肪食誘導性肥満、インスリン抵抗性に対して抵抗性を示すことを見出した。MC2R KO マウスの脂肪細胞の大きさは、野生型マウスと違いがなく、細胞数が減っていると考えられた。一方、骨量増加が起こっており、グルココルチコイドが間葉系幹細胞における脂肪系譜と骨細胞系譜への分化スイッチを制御している可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Bone marrow mesenchymal stem cells (MSCs) are multipotent cells, which give rise to adipocytes and osteoblasts. Within the bone marrow, the differentiation of MSCs into adipocytes or osteoblasts is competitively balanced; mechanisms that promote one cell fate actively suppress mechanisms that induce the alternative lineage. Glucocorticoids (GCs) are used clinically in many situations to treat various immune-mediated diseases, but their long-term administration is associated with multiple metabolic side effects, including osteoporosis and obesity. However, the role of endogenous glucocorticoid, which is synthesized in the adrenal cortex under the exclusive regulation of ACTH, in metabolism and energy balance is not fully elucidated. To analyze the role of endogenous glucocorticoid in metabolism and energy balance, we analyzed *MC2R*^{-/-} and *CRH*^{-/-} mice as models of chronic adrenal insufficiency. *MC2R*^{-/-} mice had lean bodies in old age and reduced fat mass. Adipose tissue weight was decreased in *MC2R*^{-/-} mice, while adipocyte size in epididymal white adipose tissue were comparable between *MC2R*^{-/-} mice and *MC2R*^{+/-} controls, suggesting that white adipose cell number is decreased in *MC2R*^{-/-} mice compared to *MC2R*^{+/-} controls. Both *MC2R*^{-/-} and *CRH*^{-/-} mice were resistance to high-fat diet-induced obesity and insulin resistance, and they exhibited a high bone mass phenotype in old age. Our results are consistent with the proposed roles of glucocorticoid in the differentiation of MSCs into adipocytes or osteoblasts, i.e. blocks osteogenic differentiation and promotes adipogenic differentiation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
20年度	1,000,000	300,000	1,300,000
21年度	1,100,000	330,000	1,430,000
22年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	960,000	4,290,000

研究分野：

科研費の分科・細目：

キーワード：(1)HPA axis(2)メタボリックシンドローム(3)肥満(4)インスリン抵抗性(5)遺伝子改変マウス

1. 研究開始当初の背景

生体の恒常性を脅かすようなストレスは、自律神経と HPA axis を介して、ストレス反応を引き起こし、生体の恒常性を維持するように働く。ストレスは、視床下部の CRH(corticosterone releasing hormone) の分泌を促進し、下垂体からの ACTH(Adrenocorticotropic Hormone) の分泌を介して副腎皮質からグルココルチコイドの分泌を誘導する。この HPA axis の活性化は、自律神経系と並んで、生体の恒常性の維持に重要な役割を担っている。

副腎、脳下垂体腫瘍に起因する全身性グルココルチコイド作用過剰は、内臓脂肪型肥満、インスリン抵抗性、糖尿病、高脂血症、高血圧症などを特徴とするクッシングシンドロームを引き起こす。この病態は、メタボリックシンドロームと良く似ていることから、以前より、グルココルチコイド過剰がメタボリックシンドローム発症に重要な役割を果たす可能性が示唆されてきた。また、肥満に伴うインスリン抵抗性は、副腎除去によって改善されることから、糖尿病の発症に高レベルのグルココルチコイドが悪玉として働き、グルココルチコイドレベルの調節機構の破綻が糖尿病発症の原因の一つである可能性が

示唆されている。

2. 研究の目的

申請者は、ACTH 受容体 (MC2R) 遺伝子改変マウスを作成、解析してきた (Chida et al. PNAS 2007)。ACTH 受容体は、副腎皮質以外では、脂肪細胞に発現していることが明らかになっており、ACTH は、in vitro で脂肪分解を引き起こすことが知られている。このことから、ACTH が脂肪細胞の肥大化、蓄積に重要な役割を果たしている事が推測される。しかし、その生体内における重要性、病態発症における役割に関しては、適切なモデル系、評価系が無かったために、明らかでない。本研究では、ACTH およびグルココルチコイドの脂肪細胞に対する影響について、ACTH 受容体遺伝子改変マウスを用いて、解析を行い、ACTH 受容体を標的とした肥満、糖尿病に対する新規治療戦略を打ち立てることを目的とした。

3. 研究の方法

MC2R KO マウスを B6 マウスに 8 回戻し交配した。MC2R KO(N8)では、離乳まで生き残ったホモマウスは、得られなかった。B6 背景の MC2R^{+/+}(N8)ヘテロを Balb/c マウスと交配し得られたヘテロマウス同士の掛け合わせを行ない B6/Balb 背景のマウスを実

験群として解析を行った。B6/Balb 背景の MC2R^{-/-}マウスでは、約半分が離乳まで生き残り、解析に用いた。

4. 研究成果

(1) MC2R KO マウスでは、12 週令までの体重に違いが見られないが、高齢で♂、♀共にコントロールと比べて、痩せていることが明らかになった。さらに、体重に違いが見られない 12 週令においても、脂肪重量が減少していることが明らかになった。さらに、MC2R KO マウスに高脂肪食を与えて飼育しても、コントロールと比べて、体重の増加率、脂肪量の増加率が低下しており、高インスリン血漿になりにくい事が明らかになった。

(2) 脂肪組織で発現する MC2R が脂肪分解に働いている可能性を検討するため、副腎除去マウスと MC2R KO マウスの比較を行った。しかし、脂肪組織で発現する MC2R の脂肪分解活性を示唆する様な違いは、見出されなかった。

(3) MC2R KO マウスの脂肪組織を組織学的に解析したところ、MC2R KO マウスでは、脂肪細胞の大きさには、違いがなかった。このことから、脂肪細胞の数が減少している可能性が推測された。また、骨量が増加していることから、間葉系幹細胞の骨細胞系への分化が促進され、脂肪細胞系への分化が抑制されている可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

1. Chida D*, Miyoshi K, Sato T, Yoda T, Kikusui T, Iwakura Y. The role of glucocorticoids in pregnancy, parturition, lactation, and nurturing

in melanocortin receptor 2-deficient mice. *Endocrinology* 2011 152: 1652-1660. 査読有り

2. Sato Y, Suzuki H, Sato T, Suda T, Yoda T, Iwakura Y. Chida D* The role of endogenous glucocorticoids in lymphocyte development in melanocortin receptor 2-deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010 Dec 17;403(3-4):253-7. 査読有り
3. Matsuwaki T, Nishihara M, Sato T, Yoda T, Iwakura Y. Chida D* Functional hypothalamic amenorrhea due to increased CRH tone in melanocortin receptor 2-deficient mice. *Endocrinology* 2010 151: 5489-5496. 査読有り
4. Chida D*, Sato T, Sato Y, Kubo M, Yoda T, Suzuki H, Iwakura Y. Characterization of mice deficient in Melanocortin 2 receptor on a B6/Balbc mix background. *Molecular and Cellular Endocrinology* 300 (2009) 32-36. 査読有り

[学会発表] (計 8 件)

1. Chida, D. and Sato, Y. The role of endogenous glucocorticoids in neuroendocrine and immune systems in melanocortin receptor 2 (MC2R) deficient mice, 7th World Congress on Stress, Leiden, The Netherlands, 25-27 August (2010)
2. 松脇貴志、西原真杉、岩倉洋一郎、千田大、ACTH 受容体遺伝子欠損マウスを用いたストレス性生殖障発症機構の解析、第 15 回日本生殖内分泌学会、2010 年 11 月 大阪
3. 千田 大、三好圭子、佐藤毅、菊水健史、

岩倉洋一郎、ACTH 受容体遺伝子欠損マウスを用いた妊娠、出産期におけるグルココルチコイド役割の解析、第15回日本生殖内分泌学会、2010年11月 大阪

4. 千田 大、佐藤毅、依田哲也、三好圭子、岩倉洋一郎「MC2R KO マウスにおける生殖系、生殖能力の解析」第19回間脳下垂体・副腎研究会、2009年3月 東京
5. Chida D*, Kubo M, Iwakura Y.、US/JAPAN Neurosteroid Symposium 2008、2008年9月 岐阜
6. 千田 大、久保光正、岩倉洋一郎「ACTH受容体 (MC2R) KO マウスの作成と解析」、第35回日本神経内分泌学会、下垂体研究会、2008年8月 東京
7. Receptors and Signal transduction
Melanocortin receptor 2 is required for adrenal gland development, steroidogenesis and neonatal gluconeogenesis.
Dai Chida
XIIIth International Conference on the Adrenal Cortex (Adrenal 2008) (June 11-14, 2008, San Francisco)
8. **GPCRと内分泌**
ACTH受容体 (MC2R) KO マウスの作成と解析
千田 大、久保光正、岩倉洋一郎
第5回GPCR研究会、2008年5月 東京

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：

国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

千田 大 (DAI CHIDA)

国立国際医療研究センター・研究所・室長

研究者番号：90312842

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし