

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：84427

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08165

研究課題名(和文) ACE2/Ang1-7系のDNAメチル化を介した褐色脂肪細胞分化機構の解明

研究課題名(英文) Uncovering the mechanism of BAT differentiation via DNA methylation by ACE2/Ang1-7

研究代表者

森 潤 (Mori, Jun)

地方独立行政法人大阪市民病院機構大阪市立総合医療センター(臨床研究センター)・臨床研究センター・部長

研究者番号：20750011

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：幼若マウスに1か月間高脂肪食を与えて肥満にし、1か月間Ang1-7とrecombinant human ACE2 (rhACE2)の投与を行った。両群ともに酸素消費量増加を伴う体重減少、耐糖能改善、白色脂肪細胞の減少を認めた。また分化・増殖マーカーの発現亢進を伴う褐色脂肪細胞(BAT)の重量増加を認めた。この効果を幼若マウスと成人マウスの肥満マウスでAng1-7を用いて比較したところ、成人マウスではBAT重量は低下し、幼若マウスではBAT重量は増加し大滴性の脂肪数は減少するという異なる反応を示した。BATをターゲットにした抗肥満治療は成人よりも小児で効果が高い可能性が考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではrhACE2とAng1-7ともに抗肥満効果があることを確認したが、rhACE2はWATをベージュ化することでより強い抗肥満効果を示した。rhACE2のベージュ化には、EHMT1を介したH3K9のジメチル化、GCN5/PCAFによるH3K9のアセチル化とHDAC3の発現低下によるH3K27のアセチル化が関与している可能性を示した。またrhACE/Ang1-7による抗肥満効果は若年マウスほど効果があり、BAT重量に変化や脂肪組成にも違いが生じることを確認した。この月齢によるBATへの反応の違いは、将来的なBATをターゲットにした抗肥満薬の創薬開発に役立つと考えられる。

研究成果の概要(英文)：We induced obesity in young mice by feeding them a high-fat diet for one month, followed by a one-month treatment with Ang1-7 and recombinant human ACE2 (rhACE2). Both groups exhibited weight loss accompanied by increased oxygen consumption, improved glucose tolerance, and a reduction in white adipose tissue. Additionally, there was an increase in the weight of brown adipose tissue (BAT), with enhanced expression of differentiation and proliferation markers. When comparing the effects of Ang1-7 in obese young and adult mice, the adult mice showed a decrease in BAT weight, whereas young mice exhibited an increase in BAT weight and a reduction in the number of large lipid droplets. These findings suggest that anti-obesity treatments targeting BAT may be more effective in children than in adults.

研究分野：小児代謝・内分泌

キーワード：ACE2 Angiotensin 1-7 BAT obesity

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肥満は先進国だけの問題ではなく、発展途上国を含めて世界中で増加傾向にある。肥満が、糖尿病、心血管障害を引き起こすことは昔から知られているが、近年、肥満とそれに伴う糖尿病は世界中の悪性腫瘍患者の原因の 5-7%にも上るとの報告がある(文献 1)。それらに伴う死亡率増加のみならず、それらに関わる医療費の増大が、医療経済的側面からも大きな問題である。さらには、小児肥満が過去 40 年で 10 倍にも増加しており(文献 2)、小児期の肥満の多くが成人の肥満につながるため、小児肥満に対する対策は喫緊の課題である。しかし、本邦よりも深刻な肥満の問題を抱える米国でさえもアメリカ食品医薬品局 (FDA)で承認をされている抗肥満薬は 6 つほどしかなく、その効果は限定的であり小児肥満に使用できる薬はない(文献 3)。食事療法と運動療法が治療の基本であり、小児にも使用できる効果的な抗肥満薬の開発が望まれている。

褐色脂肪細胞は、運動に拠らないエネルギー消費臓器であり、小児には豊富に存在するが、成長に伴い縮小し成人では小児の半分以下になる。褐色脂肪細胞は Myf5 陽性細胞から、転写因子 PRDM16 発現量による調節を受けて分化する。(文献 4)。また、PRDM16 はヒストンメチル化酵素である EHMT1 と転写複合体を形成し、Myf5 陽性細胞の褐色脂肪細胞への分化を誘導する(文献 5)。

本システムの調節因子としての役割を持つ ACE2 はアンジオテンシン II (Ang II)を基質として Ang1-7 に変換し、Ang1-7 の特異的受容体である Mas 受容体 (MasR) に結合することにより脂肪代謝改善やインスリン抵抗性改善などの生理作用を発揮する。本研究申請者は、独自に作出した高脂肪食肥満モデルマウスを用いて、Ang1-7/MasR が PRDM16 の発現を亢進して褐色脂肪細胞の分化・増殖を促すことを発見した(文献 6)。しかし、ACE2/Ang1-7 の PRDM16/EHMT1 発現を調節する詳細なメカニズムは不明であった。

2. 研究の目的

本研究の目的は「ACE2/Ang1-7 システムによる DNA メチル化を介した Myf5 陽性細胞の褐色脂肪細胞分化転写調節機構を解明すること」である。

3. 研究の方法

(1) 実験モデルの作成

我々が、これまでも報告している褐色脂肪細胞に肥満の影響を認める方法で実験モデルを作成する。若年肥満マウスは、生後 4 週の C57BL/6 をバックグラウンドに持つマウスを購入し、普通食 (NC)と 60%高脂肪食 (HFD)で 8 週間飼育する。心不全の改善効果などが報告されている量を用いて飼育開始 4 週後から ACE2 (2mg/kg/d)または Ang1-7 (0.5mg/kg/d)の投与を 4 週間施行した。成人肥満マウスモデルは生後 4 か月齢の C57BL/6 マウスを 8 週間 HFD で飼育し、飼育 4 週後から Ang1-7 (0.5mg/kg/d)の投与を 4 週間施行した。経過中、食事摂取量、体重増加、各種臓器(褐色脂肪細胞・白色脂肪細胞・肝臓など)の重量などを測定して、各群間での比較検討を行った。採取した臓器は、後述する分子生化学的手法を用いて褐色脂肪細胞分化のメカニズムの解明を行った。

(2) 代謝への影響の評価

経口糖負荷試験・インスリン負荷試験でインスリン抵抗性、酸素消費量測定で全身の代謝の評価を行った。褐色脂肪細胞の評価としては、寒冷刺激下の体温測定、CT による形態的評価を行った。

(3) 褐色脂肪細胞の分化・増殖に対する影響の評価

組織学的評価で褐色脂肪細胞数や脂肪滴の大きさを調べた。ウェスタン・ブロッティングやリアルタイム PCR などの分子生化学的解析で UCP1 や PRDM16 などの蛋白や mRNA の発現の評価を行った。

(4) 白色脂肪細胞のベージュ化への評価

鼠径部の皮下脂肪を採取し HE 染色や免疫染色により ACE2 のベージュ化への影響の評価を行った。PRDM16 を含めた褐色脂肪細胞化特異的遺伝子群のプロモーター領域でのヒストン修飾状態を ChIP アッセイで評価し褐色脂肪細胞との相違を含めた検討を行った。

4. 研究成果

若年肥満マウスに対して Ang1-7 と rhACE2 の投与を行ったところ、酸素消費量増加を伴う体重減少、耐糖能改善、白色脂肪細胞の減少を認めた。褐色脂肪細胞は重量が増加し、分化・増殖マーカー (PRDM16, PGC-1a) の発現亢進とインスリンシグナルの改善を示した。このことは ACE2/Ang1-7 系が BAT の分化・増殖により抗肥満効果を発揮することを示している。さらに rhACE2 投与群では、Ang1-7 投与群で認めなかった WAT のベージュ化も認め、rhACE2 の Ang1-7 よりもより強い抗肥満効果にはベージュ化が影響していることが考えられた。このベージュ化の分子メカニズムには EHMT1 を介した H3K9 のジメチル化、GCN5/PCAF による H3K9 のアセチル化と HDAC3 の発現低下による H3K27 のアセチル化が関与していると考えられた。

さらに ACE2/Ang1-7 系の抗肥満効果が年齢により違いがあるかを検討するために月齢 2 か月 (young obese) と月齢 4 か月 (aged obese) の高脂肪食誘導マウスを作出し、1 か月間 Ang1-7 の投与を行い評価をした。Ang1-7 投与により若年肥満マウスでは BAT 重量が増加したが、成人肥満マウスでは BAT 重量は減少した。さらに組織の検討では若年肥満マウスの方が大滴性の脂肪数は減少した。リピドーム解析により脂肪組成にも違いが生じることを確認した。この月齢による BAT への反応の違いは、将来的な BAT をターゲットにした抗肥満薬の創薬開発に役立つと考えられる。

文献

- (1) Bhaskaran K, et al. Lancet Diabetes Endocrinol 6: 944, 2018
- (2) NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Lancet 390: 2627, 2017
- (3) Srivastava G and Apovian CM. Nat Rev Endocrinol 14: 12, 2018
- (4) Seale P, et al. Nature 454: 961, 2008
- (5) Ohno H, et al. Nature 504: 163, 2013
- (6) Morimoto H, et al. Am J Physiol Endocrinol Metab 314: E131, 2018

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Ota Takeshi, Mori Jun, Kawabe Yasuhiro, Morimoto Hidechika, Fukuhara Shota, Kodo Kazuki, Sugimoto Satoru, Kosaka Kitaro, Nakajima Hisakazu, Hosoi Hajime	4. 巻 9
2. 論文標題 Association of Type 2 Deiodinase Thr92Ala Polymorphism with Pediatric Obesity in Japanese Children: A Case-Control Study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Children	6. 最初と最後の頁 1421 ~ 1421
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/children9101421	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 Nakajima Hanako, Nakanishi Naoko, Miyoshi Tomoki, Okamura Takuro, Hashimoto Yoshitaka, Senmaru Takafumi, Majima Saori, Ushigome Emi, Asano Mai, Yamaguchi Mihoko, Mori Jun, Sakui Norihiro, Sasano Ryoichi, Yamazaki Masahiro, Hamaguchi Masahide, Fukui Michiaki	4. 巻 19
2. 論文標題 Inulin reduces visceral adipose tissue mass and improves glucose tolerance through altering gut metabolites	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nutrition & Metabolism	6. 最初と最後の頁 19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12986-022-00685-1	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 Mori Jun, Hasegawa Tatsuji, Miyamoto Yosuke, Kitamura Kazumasa, Morimoto Hidechika, Tozawa Takenori, Pooh Ritsuko Kimata, Chiyonobu Tomohiro	4. 巻 9
2. 論文標題 Thyroid hypogenesis is associated with a novel AKT3 germline variant that causes megalencephaly and cortical malformation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Human Genome Variation	6. 最初と最後の頁 18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41439-022-00197-7	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 Okamura T, Hamaguchi M, Mori J, Yamaguchi M, Mizushima K, Abe A, Ozeki M, Sasano R, Naito Y, Fukui M	4. 巻 14
2. 論文標題 Partially Hydrolyzed Guar Gum Suppresses the Development of Sarcopenic Obesity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 1157
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu14061157.	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 Miyagaki S, Kikuchi K, Mori J, Lopaschuk GD, Iehara T, Hosoi H	4. 巻 10
2. 論文標題 Inhibition of lipid metabolism exerts antitumor effects on rhabdomyosarcoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Med	6. 最初と最後の頁 6442-6455
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cam4.4185	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 Okamura T, Hashimoto Y, Mori J, Yamaguchi M, Majima S, Senmaru T, Ushigome E, Nakanishi N, Asano M, Yamazaki M, Takakuwa H, Satoh T, Akira S, Hamaguchi M, Fukui M	4. 巻 12
2. 論文標題 ILC2s Improve Glucose Metabolism Through the Control of Saturated Fatty Acid Absorption Within Visceral Fat	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Front Immunol	6. 最初と最後の頁 669629
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2021.669629. eCollection 2021.	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 Yamaguchi M, Mori J, Nishida N, Miyagaki S, Kawabe Y, Ota T, Morimoto H, Tsuma Y, Fukuhara S, Ogata T, Okamura T, Nakanishi N, Hamaguchi M, Nakajima H, Fukui M, Iehara T	4. 巻 14
2. 論文標題 High-fat diet during pregnancy lowers fetal weight and has a long-lasting adverse effect on brown adipose tissue in the offspring	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Dev Orig Health Dis	6. 最初と最後の頁 261-271
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1017/S2040174422000551.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Jun Mori, Yasuhiro Kawabe, Hidechika Morimoto, Nozomi Inoue, Satoshi Miyagaki, Satoru Sugimoto, Takuro Okamura, Masahide Hamaguchi, Michiaki Fukui
2. 発表標題 Age different in anti-obesity treatment targeting BAT with Ang1-7
3. 学会等名 The 62nd Annual ESPE Meeting 2024 (国際学会)
4. 発表年 2024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
研究 分担者	森元 英周 (Morimoto Hidechika) (20827539)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・助教 (24303)	
研究 分担者	中島 久和 (Nakajima Hisakazu) (80363985)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・特任講師 (24303)	

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