

令和 5 年 6 月 30 日現在

機関番号：35503

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09890

研究課題名(和文) エストロゲン欠乏で発症する疾患におけるNIKの役割解明

研究課題名(英文) The elucidation of the role of NIK in estrogen deficiency-induced diseases

研究代表者

向井 悟 (Mukai, Satoru)

東亜大学・その他の研究科・准教授

研究者番号：90467887

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)：閉経後女性における肥満の発症基盤を明らかにすることを目的として、我々はサイトカインであるRANKLに着目した。まず、RANKLは骨髄細胞において、非古典的NF- $\kappa$ B経路を介してTnfaの発現を誘導した。さらに卵巣摘出したaly/alyマウスを高脂肪高シヨ糖食を与えたとき、血中RANKL濃度が上昇しているも、肝臓脂質蓄積と脂肪細胞の肥大化は抑制されていた。一方で卵巣摘出した野生型肥満マウスでは、血中RANKL濃度の上昇、肝臓脂質蓄積並びに脂肪細胞の肥大化が観察された。すなわち、非古典的NF- $\kappa$ B経路が血清RANKLの濃度上昇に伴って活性化されることが閉経後肥満を誘発していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

閉経後、女性は代謝異常(メタボリックシンドローム)のリスクを増加させる肥満になりやすい。しかしながら、閉経後に誘発される脂質蓄積のメカニズムについて詳細に明らかにはされていない。我々は、NIKを病態発症のキー分子と想定し、サイトカインRANKLに着目して閉経後肥満の発症機構の一端を明らかにした。この成果は、骨粗鬆症やメタボリックシンドロームの発症機序を明らかにしたという学術的な意義を持つ。さらに、上記疾患の予防や治療における創薬へ向けた基盤となる知見である。

研究成果の概要(英文)：Menopausal women are susceptible to visceral obesity. Circulating levels of receptor activator of nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B) ligand (RANKL) are elevated in an animal model of menopause. RANKL activates a pivotal mediator of inflammatory responses, the NF- $\kappa$ B pathway. Here, we investigated whether RANKL-induced non-canonical NF- $\kappa$ B pathway activation induces inflammation and lipid accumulation in adipose tissues. We therefore analyzed aly/aly mice, in which the non-canonical NF- $\kappa$ B pathway is not activated. A postmenopausal obesity model was generated by ovariectomy and subsequent high-fat and high-sucrose diet feeding. In aly/aly mice, serum RANKL levels were elevated, and hepatic lipid accumulation and adipocyte hypertrophy were suppressed. Furthermore, aly/aly mice showed protection from glucose intolerance and insulin resistance. These findings indicate that non-canonical NF- $\kappa$ B pathway activation via serum RANKL elevation contributes to postmenopausal obesity.

研究分野：生化学

キーワード：閉経後肥満 炎症 RANKL NIK

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

閉経に伴うエストロゲンの低下は更年期障害、骨粗鬆症、老人性膝炎ばかりでなく、内臓脂肪が増えることによる肥満、さらには脂質異常症の発生頻度も増加し、心筋梗塞、脳卒中などの心血管系疾患の発症も増加することが知られている。骨量減少は骨折リスクを上げ、運動機能の低下につながる。また日本人を対象とした前向き疫学研究の結果でも体重増加に伴った閉経後の乳がん罹患リスクの上昇が認められており、閉経後の骨量減少と肥満の予防は健康寿命を延伸するための重要な課題である。

## 2. 研究の目的

閉経後の女性は、骨密度の低下による骨折リスクや体重の増加による糖尿病や心血管障害のほか、乳がんなど女性特有のがんの発症リスクが上がることが報告されている。エストロゲン欠乏による骨密度の低下と体重増加は各臓器で共通の反応を惹起することが考えられるが、従来これらの疾患は、臓器別に研究や治療が行われてきた。申請者は、NF- $\kappa$ B inducing kinase (NIK) の遺伝的機能欠失型変異によって非古典的経路が抑制された *aly/aly* マウスは骨吸収が抑制されて大理石骨病を呈することから、NIK の阻害剤が新たな骨粗鬆症の治療薬になる可能性を考えた。そこで新規 NIK の阻害剤 Cpd33 を入手し、卵巣摘出マウスに投与すると、骨量の減少だけでなく、内臓脂肪の増加による体重増加も抑制されることを見出している。本研究では、エストロゲン欠乏による骨量減少と体重増加に、NIK が『共通制御分子』であることを想定し、その分子制御機構を明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

少なくとも閉経モデル動物の系で、血中の NF- $\kappa$ B リガンド RANKL が上昇していることが知られている。RANKL は、炎症反応の中心的なメディエーターである NF- $\kappa$ B 経路を活性化させる。以上も踏まえて我々は、RANKL 誘導性の非古典的 NF- $\kappa$ B 経路の活性化が脂肪組織で炎症と脂肪蓄積を引き起こす可能性を検証した。

それを遂行するため、野生型および *aly/aly* マウスをそれぞれ偽手術、卵巣摘出手術を行った上で (計4群) 高脂肪高シヨ糖食を与えた。これらのマウスより血清、肝臓、脂肪組織などを摘出し、生化学的、病理学的手法による解析に供した。

## 4. 研究成果

まず、野生型マウス由来の骨芽細胞では非古典的 NF- $\kappa$ B 経路を介して *Tnfa* の発現を誘導した。しかしながら、*aly/aly* マウス由来のそれでは誘導されなかった。続いて、卵巣摘出した野生型および *aly/aly* マウスでは、同様に血中 RANKL 濃度が上昇したが、後者においては肝臓脂質蓄積と脂肪細胞の肥大化は観察されなかった。そのため *aly/aly* マウスでは、内臓脂肪組織へのマクロファージの侵入と炎症性サイトカインの mRNA レベルは野生型の内臓脂肪組織と比較して優位に低かった。さらに、卵巣摘出した野生型肥満マウスではみられる糖代謝異常が、同様に卵巣摘出した *aly/aly* マウスにおいては観察されなかった。

すなわち、非古典的 NF- $\kappa$ B 経路が血清 RANKL の濃度上昇に伴って活性化されることに

より、閉経後肥満並びに糖代謝異常が誘発されていることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Satoru Mukai et al.	4. 巻 296
2. 論文標題 Adipocyte-specific GPRC6A ablation promotes diet-induced obesity by inhibiting lipolysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J. Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 1, 13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jbc.2021.100274	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 Kayo Mori et al.	4. 巻 254
2. 論文標題 RANKL elevation activates the NIK/NF- B pathway, inducing obesity in ovariectomized mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J. Endocrinology	6. 最初と最後の頁 27-36
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1530/JOE-21-0424	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 Tsukasa Aoki et al.	4. 巻 14
2. 論文標題 Inhibition of non-canonical NF- B signaling suppresses periodontal inflammation and bone loss	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Front Immunol .	6. 最初と最後の頁 1179007
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2023.1179007	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	自見 英治郎 (Eijiro Jimi) (40276598)	九州大学・歯学研究院・教授  (17102)	

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