

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 18 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2009～2011

課題番号：21689025

研究課題名（和文）

脂肪酸伸長酵素 Elovl6 の肝臓における生理的意義解明と新規生活習慣病治療法開発

研究課題名（英文）

Elucidation of the physiological role of fatty acid elongase Elovl6 in liver and development of new strategy for the treatment of metabolic disease.

研究代表者 松坂 賢 (MATSUZAKA TAKASHI)

筑波大学・医学医療系・准教授

研究者番号：70400679

研究成果の概要（和文）：Elovl6 は炭素数 12～16 の飽和および一価不飽和脂肪酸を基質とする脂肪酸伸長酵素である。本研究では肝臓特異的 Elovl6 欠損マウスを作製し、肝臓における Elovl6 の生理的意義を解析した。Elovl6 flox マウスを作製し、albumin-cre マウスと交配することにより肝臓（肝細胞）特異的 Elovl6 欠損マウスを作製した。肝臓特異的 Elovl6 欠損マウスの肝臓では、C16:0、C16:1n-7 の増加や C18:0、オレイン酸 C18:1n-9 の減少が確認された。肝臓特異的 Elovl6 欠損マウスでは高脂肪・高シヨ糖食負荷によるインスリン抵抗性が改善されなかった。一方、高シヨ糖食負荷では、flox マウスに比べて肝臓特異的 Elovl6 欠損マウスのインスリン感受性は亢進した。本研究の継続により、脂肪酸の質の制御による生活習慣病の新規予防・治療法の開発が期待される。

研究成果の概要（英文）：Elovl6 is a microsomal enzyme involved in the elongation of saturated and monounsaturated fatty acids with 12, 14, and 16 carbons. In this research, I generated liver-specific Elovl6 deficient mice (LKO), and aimed to elucidate the physiological role of Elovl6 in the liver and identify the lipid factor which control energy metabolism and insulin sensitivity. LKO mice reduce stearate and oleate levels, and increases palmitate and palmitoleate levels in the liver. In contrast to *Elovl6*^{-/-} mice, LKO mice were not protected against HFHS diet. However, high sucrose diet-feeding in LKO mice caused higher insulin sensitivity than those of flox mice. These results suggest that products of the Elovl6 reaction through de novo lipogenesis regulates hepatic insulin sensitivity, but Elovl6 inhibition in extrahepatic tissue is required to protect mice from HFHS-induced insulin resistance.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	7,100,000	2,130,000	9,230,000
2010年度	6,000,000	1,800,000	7,800,000
2011年度	6,000,000	1,800,000	7,800,000
年度			
年度			
総計	19,100,000	5,730,000	24,830,000

研究分野：代謝学、内分泌学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：脂肪酸、エネルギー代謝、インスリン感受性

1. 研究開始当初の背景

近年の肥満ならびにメタボリックシンドロームの患者の増加により、これら疾患の治療および予防に対しての有効な方法が早急に求められている。メタボリックシンドロームの病態基盤であるインスリン抵抗性は、2型糖尿病の病態のみならず動脈硬化発症、すなわち心血管イベントのリスクとして早期からの管理が求められている。インスリン抵抗性は肥満に伴うことが多く、脂質代謝異常による組織内脂質の過剰な蓄積は、リポトキシシティ(脂肪毒性)により種々の細胞内ストレスや炎症シグナルを活性化し、インスリンシグナルを阻害するものと考えられている。しかし、多くの場合、脂質蓄積の量的変動が視点となり、蓄積している脂質の質的变化についてはこれまであまり関心が払われていなかった。

我々は、エネルギーバランスの破綻、過栄養が生活習慣病をもたらす分子病態メカニズムの解明を目標に、栄養シグナルが脂肪酸合成を誘導する分子機序を生理、病態両面から解析してきた。特に転写因子 SREBP-1c を中心に、脂肪酸合成制御機構ならびにそれによるインスリン抵抗性やインスリン分泌障害への関与のメカニズムを解明してきた。トランスクリプトーム解析による新規 SREBP 標的遺伝子の探索過程において、代表者は新規長鎖脂肪酸伸長酵素 Elovl6 を単離同定し、Elovl6 が炭素数 12~16 の飽和および一価不飽和脂肪酸とする新規脂肪酸伸長酵素であり、炭素数 18 以上の長鎖脂肪酸の合成に重要なリポジェニック酵素であることを明らかにした(J Lipid Res. 43:911, 2002)。さらに、本酵素の生体内での酵素作用や生理的役割を解明するために Elovl6 欠損マウスを作製、解析した。生体内においても Elovl6 が炭素数 16 から 18 への鎖長伸長 (C16:0→C18:0、C16:1n-7→C18:1n-7) を担うことを確認し、これに伴い Elovl6 欠損マウスは炭素数 16 以下の脂肪酸の増加、炭素数 18 以上の脂肪酸の減少、不飽和/飽和脂肪酸比の増加など、種々の脂肪酸組成の変化を認めた。また、Elovl6 欠損マウスでは肝臓におけるエネルギー代謝関連遺伝子発現が変化し、高脂肪食負荷や肥満モデル ob/ob マウスとの交配により野生型マウスと同様に肥満・脂肪肝を呈するが、野生型マウスに比べて良好な耐糖能・インスリン感受性を示し、生活習慣病病態の改善が認められることを明らかにした(Nat. Med. 13:1193, 2007)。したがって、細胞内の脂質の「量的変化」のみならず、Elovl6 活性による脂肪酸組成の変化という脂質の「質的变化」もエネルギーバランスの重要な決定因子であり、その詳細なメカニズムの解明と制御が、肥満の改善を必要としな

い生活習慣病の新しい治療法になる可能性があると考えられる。

2. 研究の目的

このように、Elovl6 の発現がインスリン抵抗性の発症に関わっていることが明らかとなり、Elovl6 は生活習慣病の創薬のターゲットとして注目を集めている。しかしながら、以下のような未解明な問題が残っている。

(1) どの組織での Elovl6 発現がインスリン抵抗性の発症に関わっているのか？ (2) 脂肪酸組成の変動が、どの脂質クラスにおいて変化しているか、またどの細胞内部位において変化しているのか？ (3) Elovl6 による脂肪酸組成の変動が、どのようにしてエネルギー代謝・インスリン感受性制御系に影響を与えるのか？

そこで本研究では、脂質の質的变化—すなわち特定の脂肪酸あるいは脂肪酸組成の変化—に重点を置き、組織脂肪酸組成という新しい代謝性変動の視点から生活習慣病治療のアプローチを試みた。Elovl6 欠損マウスにおいて、特にエネルギー代謝関連遺伝子発現の変化、インスリン感受性の亢進が認められた肝臓における Elovl6 の生理的・病態生理的意義をさらに解明するために、肝臓特異的 Elovl6 欠損マウスを作製し、肝臓における Elovl6 の生理的・病態生理的意義をより解明するとともに、細胞内脂肪酸組成の変化に応じたエネルギー代謝・インスリン感受性調節の分子メカニズムならびにそれらを制御する脂質因子を特定することを目的とした。

本研究計画によって、肝臓における Elovl6 の生理的・病態生理的役割を明らかにし、細胞内脂肪酸組成の変化に応じたエネルギー代謝調節の分子メカニズムの解明、ならびにそれを制御する新規脂質因子・遺伝子を解明することは、エネルギー代謝およびインスリン抵抗性の病態理解を深めるだけでなく、肥満、糖尿病、脂質異常症などの生活習慣病や動脈硬化症の治療標的となる可能性を持ち、その臨床的意義も大きいといえる。

3. 研究の方法

Elovl6 flox マウスを作製し、albumin-cre マウスと交配することにより肝臓(肝細胞)特異的 Elovl6 欠損マウスを作製した。これらマウスの各種栄養条件(普通食、高シヨ糖・低脂肪食、高脂肪・高シヨ糖食、絶食/再摂食)における個体としての表現型、および肝臓特異的 Elovl6 欠損 ob/ob マウスの表現型を、体重、組織重量、体脂肪量、血糖値、血中ホルモン・生理活性物質濃度、血中脂質、臓器脂質含量、糖負荷試験、インスリン負荷試験などエネルギー代謝の従来の方法により解析した。また、これらのマウスに対し、

肝臓における脂肪酸合成活性、脂肪酸燃焼活性、糖取り込み・糖新生測定、エネルギー消費量測定、インスリンシグナル分子の活性化の検討を行い、肝臓 Elov16 の糖脂質代謝、インスリン感受性調節における役割を検討した。

4. 研究成果

肝臓特異的 Elov16 欠損マウスの肝臓では、パルミチン酸 (C16:0)、パルミトオレイン酸 (C16:1n-7) の増加やステアリン酸 (C18:0)、オレイン酸 (C18:1n-9) の減少が確認された。

Elov16 全身欠損マウスと異なり、肝臓特異的 Elov16 欠損マウスでは高脂肪・高シヨ糖食負荷によるインスリン抵抗性が改善されなかった。

一方、高シヨ糖食負荷では、flox マウスに比べて肝臓特異的 Elov16 欠損マウスのインスリン感受性は亢進した。高シヨ糖食負荷により肝臓特異的 Elov16 欠損マウスの肝臓で脂肪酸分子種が顕著に変化する脂質を見出しており、この脂質のインスリン感受性やエネルギー代謝における機能解析を引き続き進めることで、脂肪酸の質の制御による生活習慣病の新規予防・治療法の開発が期待される。

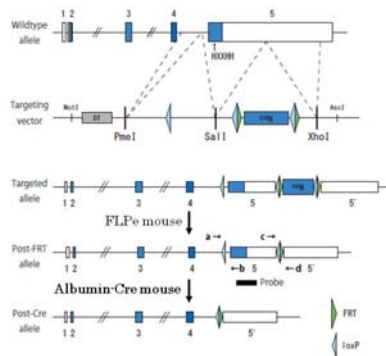


図 肝臓特異的Elov16欠損マウス作製のストラテジー

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.Iwasaki H, Naka A, Iida KT, Nakagawa Y, Matsuzaka T, Ishii KA, Kobayashi K, Takahashi A, Yatoh S, Yahagi N, Sone H, Suzuki H, Yamada N, Shimano H. TFE3 regulates muscle metabolic gene expression, increases glycogen stores, and enhances insulin sensitivity in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 302(7), E896-902, 2012. 査読有

2.Saito R, Matsuzaka T, Karasawa T, Sekiya M, Okada N, Igarashi M, Matsumori R, Ishii K, Nakagawa Y, Iwasaki H, Kobayashi K, Yatoh S, Takahashi A, Sone H, Suzuki H, Yahagi N, Yamada N, Shimano H. Macrophage Elov16 deficiency ameliorates foam cell formation and reduces atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 31(9), 1973-9, 2011. 査読有

3.Kumadaki S, Karasawa T, Matsuzaka T, Ema M, Nakagawa Y, Nakakuki M, Saito R, Yahagi N, Iwasaki H, Sone H, Takekoshi K, Yatoh S, Kobayashi K, Takahashi A, Suzuki H, Takahashi S, Yamada N, Shimano H. Inhibition of ubiquitin ligase F-box and WD repeat domain-containing 7 α (Fbw7 α) causes hepatosteatosis through Kruppel-like factor 5 (KLF5)/peroxisome proliferator-activated receptor γ 2 (PPAR γ 2) pathway but not SREBP-1c protein in mice. *J Biol Chem.*286(47), 40835-46, 2011. 査読有

4.Karasawa T, Takahashi A, Saito R, Sekiya M, Igarashi M, Iwasaki H, Miyahara S, Kobayashi K, Yahagi N, Takekoshi K, Sone H, Yatoh S, Suzuki H, Yamada N, Shimano H. Sterol regulatory element-binding protein-1 determines plasma remnant lipoproteins and accelerates atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 31(8), 1788-95,2011. 査読有

[学会発表] (計3件)

1.Haruna Shinozaki, Takashi Matsuzaka, Yukio Nagasaki, Hitoshi Shimano, et al. A novel bile salt sequestering agent PEGylated and quaternized polyamine nanogel reduces VLDL and LDL cholesterol, raises HDL cholesterol, and prevents atherosclerosis in mice. 第34回日本分子生物学会年会 2011年12月14-15日

2.Rie Matsumori, Takashi Matsuzaka, Yukio Nagasaki, Hitoshi Shimano, et al. A novel bile salt sequestering agent_"PEGylated and quaternized polyamine nanogel" reduces VLDL and LDL cholesterol, raises HDL cholesterol, and prevents atherosclerosis in mice. 第84回米国心臓協会学術集会 (AHA Scientific Sessions 2011) 2011年11月15日

3.Rie Matsumori, Takashi Matsuzaka, Yukio Nagasaki, Hitoshi Shimano, et al. "PEGylated and quaternized polyamine nanogel" a novel

bile salt sequestering agent, ameliorates dyslipidemia through reduction of VLDL and LDL cholesterol, and induction of HDL cholesterol. 第 43 回日本動脈硬化学会学術集会
2011 年 7 月 16 日

[その他]

ホームページ等

<http://www.u-tsuba-endocrinology.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松坂 賢 (MATSUZAKA TAKASHI)

筑波大学・医学医療系・准教授

研究者番号：70400679