

機関番号：14202

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2009～2010

課題番号：21890110

研究課題名（和文）PGC-1 β を介した翻訳後修飾による新たな果糖応答性肝脂質合成調節機構の解明研究課題名（英文）A possible mechanism of fructose-induced lipid synthesis for post translational modification of PGC-1 β .

研究代表者

永井 義夫 (YOSHIO NAGAI)

滋賀医科大学・医学部・医員

研究者番号：90402718

研究成果の概要（和文）：高果糖食負荷マウスの肝臓組織を用いた検討により、食後に O-GlcNAc 修飾を受けるタンパクが増加することが明らかとなり、飽食によるヘキソサミン経路の増加がメタボリックシンドローム発症に関与している可能性が示唆された。また、果糖誘導性の肝での脂肪合成増加に転写因子 ChREBP が関与していることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：The impact analysis using mouse liver tissue of high fructose feeding, revealed that O-GlcNAc proteins were increased after meal ingestion. These data suggest that increased hexosamine pathway might be associated with the development of metabolic syndrome. Furthermore, fructose may activate a transcription factor, ChREBP which was known to respond to glucose.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,050,000	315,000	1,365,000
2010 年度	950,000	285,000	1,235,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,000,000	600,000	2,600,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：代謝学

キーワード：果糖、糖鎖、メタボリックシンドローム、栄養

1. 研究開始当初の背景

メタボリックシンドロームの増加は過剰なエネルギー摂取が一因となっている。我々は、果糖摂取による栄養素に特異的な肝での脂質合成誘導機構が存在し、メタボリックシンドロームを誘導することを、動物モデルを用いて明らかにしてきた (Shinozaki K et al., Diabetes 1999, Circ Res 2000)。そしてこの果糖の効果は肝臓での脂肪合成酵素群の発現を調節する転写因子 Sterol Regulatory Element Binding Protein (SREBP)-1 の発現増加によるものであることを報告した (Nagai Y et al., Am J Physiol

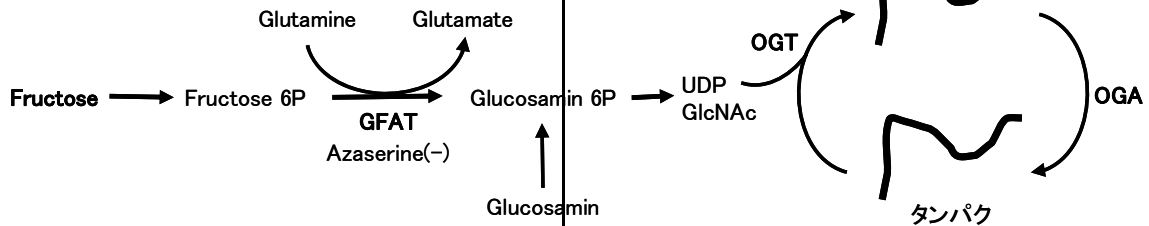
2002)。

さらに、高果糖食によるメタボリックシンドローム発症には、転写補助因子 PGC-1 β を介した SREBP-1 の発現上昇が不可欠であることを明らかにしてきた (Nagai Y et al., Cell Metabolism 2009)。

生命現象の基本である分子間相互作用の現場では、遺伝子産物そのまま機能することはむしろ稀であり、プロテアーゼによる部分分解と、リン酸化・糖鎖付加・硫酸化などの翻訳後修飾を受けた“成熟型分子”が働いていることが明らかにされつつある。

図 1

Hexosamine Biosynthetic Pathways



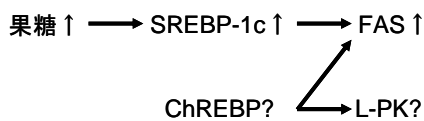
前述の PGC-1 β による SREBP-1 発現促進効果についても、SREBP-1 の発現が上昇する食後には、むしろ PGC-1 β の mRNA 発現は低下しており、翻訳後修飾による活性の調節が示唆される。

2. 研究の目的

(1) 果糖が O 結合型糖鎖修飾の基質となる N アセチルグルコサミン (GlcNAc) へ代謝されやすい事に着目し、翻訳後修飾の重要な柱の 1 つである糖鎖化の意義について果糖誘導性メタボリック症候群モデル動物を用いて明らかにする。

(2) 高果糖食により SREBP-1c の発現およびその標的遺伝子である脂肪酸合成酵素 (FAS) の発現が上昇し、炭水化物から脂肪の de novo 合成が亢進し、メタボリックシンドロームを発症すると考えられるが、この FAS の遺伝子発現を促進する他の転写因子として Carbohydrate Responsive Element Binding Protein (ChREBP) が知られている。ChREBP はブドウ糖に反応し、脂質合成を亢進させることが知られているが、同じ単糖類である果糖によってもこの経路が活性化されるかについて in vivo の系を用いて検討する。

図 2



3. 研究の方法

(1) マウスを通常食および高果糖食にて 4 週間飼育した後、空腹時および再摂食後における肝での PGC-1 β のタンパク発現および O 結合型糖鎖修飾の変化をそれぞれの特異的抗体を用いてウェスタンブロット法を用いて検討する。また、図 1 に示すヘキソサミン経路において、律速酵素であるグルコサミン-6-リン酸合成酵素 (L-グルタミン:D-フルクトース-6-リン酸アミドトランスフェラーゼ:GFAT) をはじめ、タンパクへ O-GlcNAc を付

加する O-glucNAc トランスフェラーゼ (OGT)、タンパク質から O-GlcNAc を除去する加水分解酵素 O-GlcNAcase (OGA) の発現についても検討する。

(2) マウスを通常食、高果糖食および高脂肪食負荷にて 4 週間飼育した後、得られた肝臓の L-PK および ChREBP の発現について検討する。

4. 研究成果

(1) in vivo での PGC-1 β および O 結合型糖鎖修飾の変化

マウスを通常食および高果糖食にて 4 週間飼育した後、空腹時および再摂食後における肝での PGC-1 β のタンパク発現ウェスタンブロット法を用いて検討した。その結果、食事摂取により、肝 PGC-1 β の mRNA は低下するものの、タンパク発現には変化を認めなかった。この結果は PGC-1 β の翻訳後修飾の可能性を示唆するものであった。次に O 結合型糖鎖修飾の変化を検討したところ、食事摂取により O 結合型糖鎖修飾を受けるタンパクは非特異的に増加を認めるものの、通常食群と高果糖食群との間には差は認めなかった。

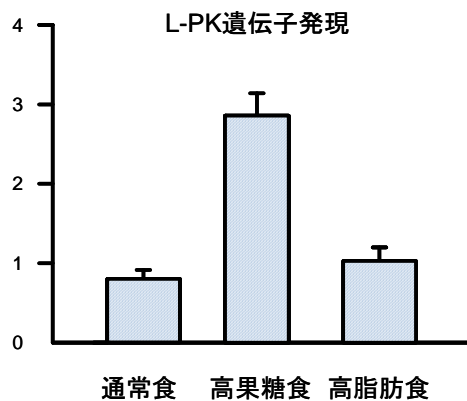
また、糖代謝における O 結合型糖鎖修飾増加の経路であるヘキソサミン経路について検討した。この経路の律速酵素である GFAT をはじめ、OGT、OGA の mRNA 発現は、高果糖食により上昇を認めず、果糖食によるヘキソサミン経路の亢進を示唆するデータは得られなかった。

ヘキソサミン経路を調節する酵素群が、少なくとも mRNA レベルでの調節を受けていないことは、この経路が基質依存的であることを示唆した。実際食事摂取により O 結合型糖鎖修飾を受けるタンパクが非特異的に増加することがこれを裏付けるデータであった。

今後、飽食によるヘキソサミン経路の亢進とメタボリックシンドローム発症を結びつける具体的な分子メカニズムの探索に展望を残す結果であった。

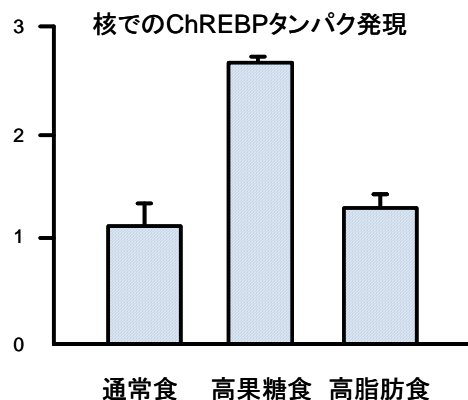
(2) 高果糖食により、これまでの検討通り転写因子 SREBP-1c およびその標的遺伝子である FAS の発現が上昇していた。そしてこの現象は通常食ではもちろん高脂肪食でも認められず、炭水化物である果糖による *de novo* の脂肪合成の亢進が示唆された。この条件で L-PK の発現を検討したところ、図 3 の通り、高果糖食群のみで L-PK の発現が上昇しており、ChREBP の転写活性が上昇していることが示唆された。

図 3



そして ChREBP の発現は、高果糖食により mRNA のみならず核タンパクでも上昇していた (図 4)。

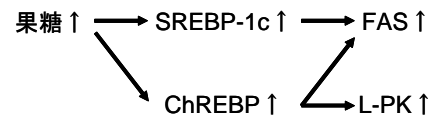
図 4



転写因子 ChREBP は、これまで主にブドウ糖に反応する転写因子として知られていたが、我々の検討により同じ単糖類である果糖にも反応することが明らかとなり、果糖誘導性の脂肪合成促進経路に SREBP-1c とは別な経路が存在することが明らかとなった (図 5)。

日本人の食生活は米を主食とする高炭水化物食といえる。今後、日本人のメタボリックシンドローム発症メカニズムを考える上で、炭水化物からの *de novo* の脂肪合成亢進を考える上で重要な展望が開けた結果であった。

図 5



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 永井義夫
肝での果糖代謝、日本臨床 68 巻、増刊号 2、162-166、2010、査読無
- ② 永井義夫、柏木厚典
果糖の栄養学 -新しいメタボリックシンドローム誘導機構-、食生活 104 巻、12-17、2010、査読無
- ③ 永井義夫、柏木厚典
果物の食べ方 -量とタイミング-、月刊糖尿病ライフ「さかえ」50 巻、18-21、2010、査読無
- ④ 永井義夫、柏木厚典
フルクトースの健康影響、医と食、2 巻、303-306、2010、査読無

[学会発表] (計 1 件)

永井義夫 果糖誘導性メタボリックシンドロームにおける PPAR- γ coactivator 1 β (PGC-1 β) の重要性、第 52 回日本糖尿病学会年次学術集会、2009 年 5 月 22 日、大阪国際会議場

6. 研究組織

(1) 研究代表者

永井 義夫 (NAGAI YOSHIO)
滋賀医科大学・医学部・医員
研究者番号：90402718

(4) 研究協力者

潮 正輝 (MASATERU USHIO)
滋賀医科大学・医学部・大学院生
研究者番号：なし