

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08554

研究課題名（和文）新規SREBPユビキチンリガーゼの肥満糖尿病及びクッシング症候群における意義解明

研究課題名（英文）Significance of novel ubiquitin ligase of SREBP in obesity, diabetes and Cushing syndrome

研究代表者

奥野 陽亮（Okuno, Yosuke）

大阪大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：10534513

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：脂肪細胞特異的Armc5欠損マウスの脂肪組織において、脂肪酸不飽和化の減少が認められた。また、腸間膜脂肪組織の重量増加は、脂肪細胞数の増加によると考えられた。更に、ATACシーケンスを施行したところ、Scd1遺伝子座周辺のSREBP1結合領域においてピークが減弱した。SCAP欠損CHO細胞を作製した所、全長型SREBF1は著明に減少したが、ARMC5を二重欠損させると、全長型SREBF1の蛋白量は回復した。また、HEK293TにおいてSCAPを過剰発現させると、ARMC5による全長型SREBF1の分解作用は阻害され、核内型SREBP1/全長型SREBP1比は増大した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでin vitroでの機能のみが解明されていたARMC5が、in vivoの脂肪組織においてSREBF1の活性に必須であり、脂肪酸不飽和化や内臓脂肪蓄積を制御すること、また、これがSCAP非結合型SREBF1の分解によることを明らかにした。本研究により、内臓脂肪蓄積の新たな制御機構が明らかとなり、内臓脂肪蓄積抑制薬の開発につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Fatty acid desaturation was impaired in the WAT of adipocyte-specific Armc5 knockout mice. Increased mesenteric adiposity was due to adipocyte hyperplasia. ATAC-Seq peaks were diminished around the Scd1 locus in adipocyte-specific Armc5 knockout mice. Full-length SREBF1 were decreased in SCAP-deficient CHO cells, which was rescued by additional knockout of ARMC5. Overexpression of SCAP inhibited ARMC5-mediated degradation of full-length SREBF1 and increased the ratio of nuclear SREBF1/full-length SREBF1.

研究分野：脂肪細胞学

キーワード：ARMC5

## 1. 研究開始当初の背景

脂質合成及び分解により制御される脂質代謝は、肝臓においては脂肪肝の形成を、脂肪細胞においては脂質蓄積能を制御するなど、肥満糖尿病の病態において重要な役割を担う。申請者はこれまで、脂肪細胞において酸化ストレス(Okuno Y et al., *Diabetes* 2018)やグルココルチコイド受容体(Hayashi R, Okuno Y et al., *Endocrinology* 2019)を減少させることにより、脂質代謝の変化により脂肪細胞の脂質蓄積能が増大し、異所性脂肪蓄積の減少やインスリン抵抗性の改善につながることを見出した。近年、申請者らは、クッシング症候群(ステロイド過剰症)の原因遺伝子 ARMC5 が、脂質合成において中心的な役割を果たす転写因子 SREBF の新規コピキチンリガーゼであることを、分子レベルにおいて明らかにした。

## 2. 研究の目的

ARMC5 の副腎以外の組織における意義及び *in vivo* における生理的意義に関しては不明である。また、SREBF は、脂肪酸合成の主要転写因子であり、脂肪酸合成は脂肪組織及び肥満病態において重要な役割を担うことから、本研究では、(1) 肥満糖尿病における ARMC5-SREBP 相互作用の病態学的意義の解明、(2) クッシング症候群における ARMC5-SREBP 相互作用の生理病態学的意義の解明、の2点を研究目的とした。

## 3. 研究の方法

脂肪細胞特異的 Adipoq-Cre と Armc5 flox を交配させ、脂肪細胞特異的 Armc5 欠損マウスを作出した。脂肪細胞特異的 Armc5 欠損マウスの体重を測定し、肝臓、皮下脂肪組織、腸間膜脂肪組織、性腺周囲脂肪組織、褐色脂肪組織重量を測定した。また、各脂肪組織の遺伝子発現を、RT-qPCR 法及び RNA-Seq により定量した。脂肪細胞特異的 Armc5 欠損マウスの脂肪組織から全脂質を抽出し、GC-MS により、脂肪酸組成を測定した。また、腸間膜脂肪組織の切片を用い、脂肪滴サ

イズを定量した。更に、脂肪細胞特異的 Armc5 欠損マウスの脂肪組織において、ATAC シークエンスを施行した。

CRISPR-Cas9 を用い、SCAP 欠損 CHO 細胞及び、SCAP/ARMC5 二重欠損 CHO 細胞を作製した。また、HEK293T において SCAP/SREBF1/Armc5/Insig1 を共発現させ、western blot を行った。

#### 4 . 研究成果

脂肪細胞特異的 Armc5 欠損マウスは野生型と比べ、体重、肝重量、皮下脂肪重量、性腺周囲脂肪重量に変化を認めなかったが、腸間膜脂肪組織の有意な増加を認めた。脂肪細胞特異的 Armc5 欠損マウスの脂肪組織においては、SREBF1 の標的遺伝子である Scd1-4 の発現が著明に低下した。また、飽和脂肪酸の増加、不飽和脂肪酸の減少が認められ、脂肪酸不飽和化が減少したと考えられた。また、腸間膜脂肪組織では小型脂肪組織の増加を認め、脂肪細胞数が増加していると考えられた。更に、ATAC シークエンスを施行したところ、Scd1 遺伝子座周辺の SREBP1 結合領域においてピークが減弱した。

SCAP 欠損 CHO 細胞を作製した所、全長型 SREBF1 は著明に減少したが、ARMC5 を二重欠損させると、全長型 SREBF1 の蛋白量は回復した。また、HEK293T において SCAP を過剰発現させると、ARMC5 による全長型 SREBF1 の分解作用は阻害され、核内型 SREBP1/全長型 SREBP1 比は増大した。更に、Insig1 を発現させた所、SCAP による SREBP1 の核内移行は阻害され、この条件下においても、SCAP の過剰発現は ARMC5 による全長型 SREBF1 の分解作用は完全に消失した。

以上より、ARMC5 は SCAP と結合していない SCAP-free SREBF1 のみを選択的に分解すること、SCAP-free SREBF1 の分解は、SREBF1 のプロセッシング及び下流の遺伝子発現制御に必須であることが個体レベルで明らかになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 奥野陽亮、大月道夫、福原淳範、下村伊一郎
2. 発表標題 ARMC5-CUL3コピキチンリガーゼ複合体は、全長型SREBPを基質とし、BMAHの発症に寄与する
3. 学会等名 第96回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 奥野陽亮、魚田晃史、大月道夫、福原淳範、下村伊一郎
2. 発表標題 全長型SREBPを基質とするARMC5-CUL3コピキチンリガーゼの同定と解析
3. 学会等名 第42回日本肥満学会
4. 発表年 2022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	大月 道夫  (Otsuki Michio)  (00403056)	大阪大学・医学系研究科・准教授   (14401)	
研究分担者	福原 淳範  (Fukuhara Atsunori)  (00437328)	大阪大学・医学系研究科・寄附講座准教授   (14401)	

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