

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16369

研究課題名（和文）脂肪細胞由来ケトン体による脂肪細胞機能の制御および恒常性維持機構の解明

研究課題名（英文）Clarification of the regulation of adipocyte function and the mechanism maintaining metabolic homeostasis by ketone body in adipocytes

研究代表者

西谷 重紀（Nishitani, Shigeki）

大阪大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：30889407

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：脂肪細胞の生理的な機能は、摂食/絶食の生理的な栄養状態の変化に応じて余剰なエネルギーを蓄積し放出することである。全身の栄養状態変化に応じたケトン体による脂肪細胞の機能制御を解明した。結果、脂肪細胞はケトン体合成酵素Hmgcs2を発現しておりケトン体を合成・分泌すること、ケトン体はエンドクラインおよびオートクライン/パラクラインに脂肪細胞に作用して抗酸化ストレス因子・PPAR $\gamma$ ・脂肪合成・インスリンシグナルといった脂肪細胞機能を増強すること、を明らかにした。以上からケトン体は飢餓状態後のインスリン存在下での脂肪細胞機能を亢進させることで疲弊した脂肪細胞機能の回復に寄与することを想定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脂肪細胞は飢餓状態において脂肪分解を介して脂肪酸を供給する臓器であるが、今回の研究によって脂肪細胞はケトン体を産生することが明らかになった。さらに、ケトン体は栄養状態に応じて産生され、局所的に作用することで脂肪細胞機能を制御することが明らかになった。脂肪組織はエネルギー貯蔵臓器であることから、栄養状態を鋭敏に感知することで、脂肪細胞局所で脂肪酸分解や糖取り込み、中性脂肪蓄積が制御されることは合理的なホメオスタシス制御機構だと考えられる。ケトン体によるシグナル経路を解明することで、飢餓状態を模倣する新たな肥満病態改善薬の開発に寄与することが可能となる。

研究成果の概要（英文）：Adipocyte is essential in regulating metabolic homeostasis during feeding/fasting cycle. We revealed that adipocyte produces ketone body (3HBA). Hmgcs2 is the first rate-limiting enzyme of ketogenesis. From database analysis and in vivo and in vitro experiments, we found that adipose tissue and adipocytes express Hmgcs2, and that adipocytes produce and secrete 3HBA. Treatment with 3HBA enhanced the gene expression levels of the antioxidative stress factors, PPAR $\gamma$ , and lipogenic factors in adipose tissue in vivo and in adipocytes in vitro, accompanied by reduced ROS levels. Knockdown of endogenous Hmgcs2 in adipocytes markedly decreased 3HBA levels in adipocytes and decreased the gene expression levels of the antioxidative stress factors, PPAR $\gamma$ , and lipogenic factors with increased ROS levels. Our results demonstrate that 3HBA plays significant roles in enhancing the function of adipocytes.

研究分野：内分泌学、代謝学

キーワード：ケトン体 脂肪細胞

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

脂肪細胞の生理的な機能とは、摂食/絶食のような生理的な栄養状態の変化に応じて余剰なエネルギーを蓄積し、必要に応じて放出することである。摂食/絶食サイクルによって、インスリンやグルカゴンなどの内分泌因子や脂肪細胞局所のアディポサイトカイン、細胞内の生理的な酸化ストレスが増減し、その結果として脂肪細胞の糖取り込みが変化し、解糖系や TCA サイクルの中間代謝産物の量が変化する。このような生理的状态および肥満病態における脂肪細胞の代謝性変化を明らかにするために、申請者は肥満モデルマウスの脂肪組織を用いた代謝物解析を行った。その結果、糖尿病治療薬である SGLT2 阻害薬投与マウスのメタボローム解析では脂肪組織のケトン体が増加することを見出した (Nishitani S. et al. Sci Rep. 2018 8:8805)。ケトン体のひとつである 3 ヒドロキシ酪酸 (3-hydroxy butyric acid ; 3HBA) の作用を培養脂肪細胞で解析したところ、3HBA 自体が、脂肪細胞のヒストンにヒドロキシブチル修飾を生じることで、脂肪細胞機能に重要なアディポネクチンの発現をエピジェネティックに制御することを見出した (Nishitani S. et al. Sci Rep. 2018 8:8805)。3HBA は絶食時に産生される代謝物であり、飢餓状態すなわち全身性のエネルギー枯渇を示す代謝物である。本研究結果を敷衍して、全身の栄養状態変化を反映した脂肪細胞の代謝物が、脂肪細胞機能を制御する可能性を想定した。

### 2. 研究の目的

脂肪細胞において、栄養因子であるケトン体 3HBA の産生制御機構、脂肪細胞に対する作用を明らかにすることである。

### 3. 研究の方法

#### (1) ケトン体 3HBA の脂肪細胞に対する作用

ケトン体合成の律速酵素である Hmgcs2 を全身性に欠損したマウス (KO) と野生型マウス (WT) に対して絶食 12 時間、摂食 12 時間の負荷後の脂肪組織を解析する。さらに、野生型マウス (WT) に対して絶食 12 時間後に PBS または 3HBA を腹腔内投与 (ip) し、摂食 12 時間の負荷後の脂肪組織を解析する。

培養脂肪細胞に対して 3HBA を添加し、酸化ストレス因子・アディポサイトカイン・脂肪酸合成酵素の遺伝子発現量や、酸化ストレス・インスリンシグナル・細胞内中性脂肪含量を測定し、ケトン体が脂肪細胞機能に及ぼす作用を解析する。さらに、培養脂肪細胞に対して siRNA を用いて Hmgcs2 のノックダウンを行い、上記の脂肪細胞機能指標を解析する。

#### (2) 脂肪細胞におけるケトン体 3HBA の産生制御機構

絶食・摂食状態のマウス精巣周囲脂肪のマイクロアレイ解析、および培養脂肪前駆細胞 (未分化)・培養脂肪細胞 (分化) で、Hmgcs2 の遺伝子発現量の変化を解析する。さらに培養脂肪前駆細胞・培養脂肪細胞については、細胞内および培養上清中への 3HBA 分泌量の変化についても解析する。

培養脂肪細胞において、栄養状態に関連した 3HBA やグルココルチコイド、インスリンによって、3HBA 産生の律速酵素である Hmgcs2 の遺伝子発現量の変化を解析する。

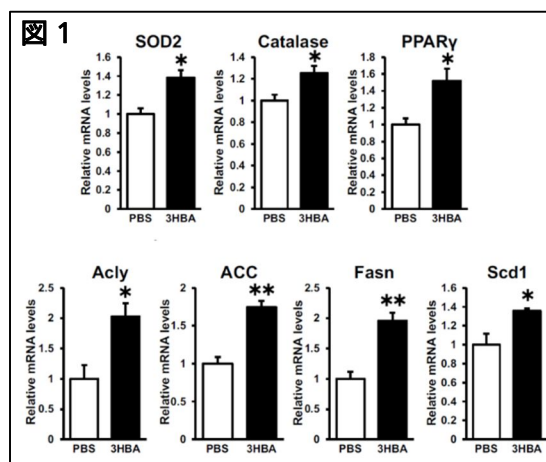
### 4. 研究成果

#### (1) ケトン体 3HBA の脂肪細胞に対する作用

ケトン体 3HBA の生体内脂肪組織における作用を解明するために、ケトン体合成酵素である Hmgcs2 を全身性に欠損したマウス (KO) と野生型マウス (WT) に対して絶食 12 時間、摂食 12 時間の負荷後の脂肪組織の解析を行った。KO 群では SOD1 や Catalase などの酸化ストレス因子の発現低下、アディポネクチンの発現低下、脂肪酸合成酵素である Scd1 の発現が低下することを発見した。

次に、野生型マウス (WT) に対して絶食 12 時間後に PBS または 3HBA を腹腔内投与 (ip) し、摂食 12 時間の負荷後の脂肪組織の解析を行った。

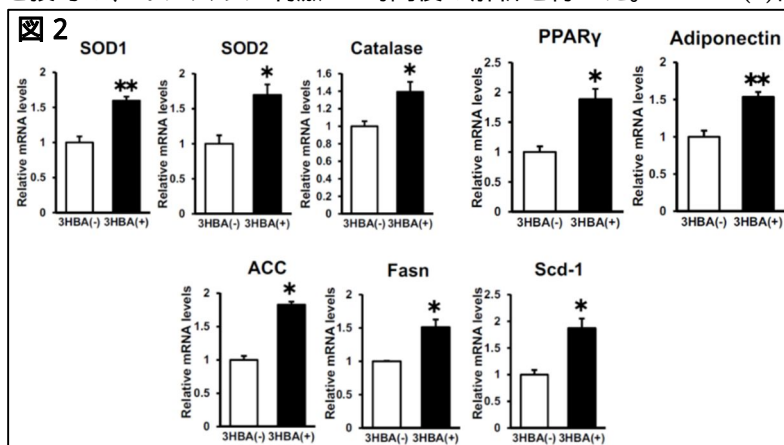
3HBA 投与群では SOD2 や Catalase などの酸化ストレス因子の発現増加、PPAR $\gamma$  の発現増加、脂肪酸合成酵素である Acly・ACC・Fasn・



Scd1 の発現が増加することを発見した (図 1)。  
 これらはケトン体合成が欠損した Hmgcs2 欠損マウスとは反対の変化であった。

ケトン体 3HBA の脂肪細胞への作用を解明するために、培養脂肪細胞に対して PBS( 3HBA(-) )  
 または 3HBA ( 3HBA (+) ) を投与し、インスリン刺激 24 時間後の解析を行った。3HBA (+) 群

では SOD1・SOD2・Catalase などの抗酸化ストレス因子の発現増加、PPAR $\gamma$  とアディポネクチンの発現増加、脂肪酸合成酵素である ACC・Fasn・Scd1 の発現が増加することを発見した (図 2)。

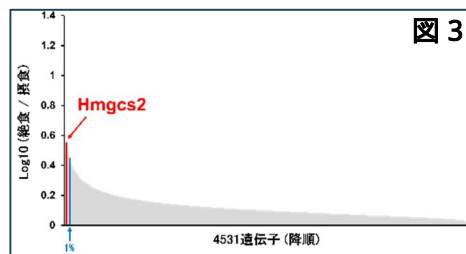


さらに、3HBA( 3HBA (+) ) 投与により、酸化ストレスが軽減し、インスリンシグナルと細胞内中性脂肪含量が増強することも、合わせて見出した。  
 これらはケトン体を投与したマウスと同様の変化であった。  
 次に、培養脂肪細胞に対して siRNA を用いて Hmgcs2 のノックダウンを行ったところ、Hmgcs2 ノックダウンにより SOD1・SOD2・Catalase などの抗酸化ストレス因子の発現低下、PPAR $\gamma$  の発現低下、脂肪酸合成酵素である ACC・Fasn・Scd1 の発現が低下することを発見した。  
 これらはケトン体 3HBA を投与した培養脂肪細胞とは反対の変化であった。

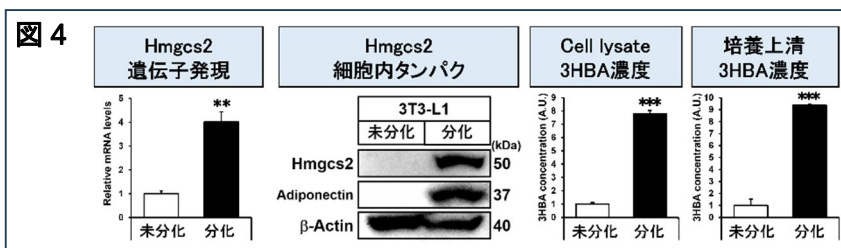
以上の結果から、飢餓状態で Hmgcs2 によって産生されるケトン体 3HBA は、摂食状態における脂肪細胞の機能を亢進させることが明らかになった。飢餓状態における疲弊した脂肪細胞機能を効率的に回復させる保護機構であると考えられた。

## ( 2 ) 脂肪細胞におけるケトン体 3HBA の産生制御機構

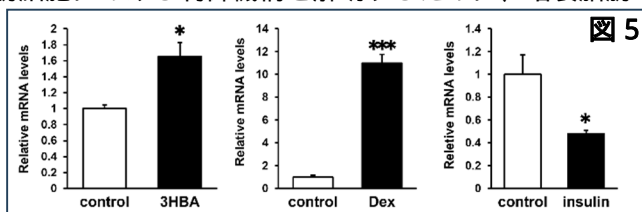
ケトン体合成酵素 Hmgcs2 の生体内脂肪組織における発現・制御を解明するために、絶食・摂食状態のマウス精巣周囲脂肪のマイクロアレイ解析( GSE46495 )を行った。摂食と比較して絶食で増強する遺伝子が 4531 遺伝子あり、Log 10 ( 絶食/摂食 ) を降順に並べたところ、Hmgcs2 は上位 1%以内であることを発見した( 図 3 )。



次に、ケトン体合成酵素 Hmgcs2 の脂肪細胞における発現・機能を解明するために、培養脂肪前駆細胞 ( 未分化 ) および培養脂肪細胞 ( 分化 ) での変化を解析したところ、培養脂肪前駆細胞 ( 未分化 ) と比較し培養脂肪細胞 ( 分化 ) で Hmgcs2 の遺伝子発現・タンパク発現とも増強し、細胞内および培養上清中の 3HBA 濃度の増加を認めた ( 図 4 )。



最後に、ケトン体合成酵素 Hmgcs2 の脂肪細胞における制御機構を解明するために、培養脂肪細胞において、栄養状態に関連した 3HBA・グルココルチコイド ( Dex )・インスリンを添加し Hmgcs2 の遺伝子発現を解析した。結果、Hmgcs2 の遺伝子発現は、3HBA・Dex で増加し、インスリンで低下することを発見した ( 図 5 )。



以上の結果から、ケトン体合成酵素である Hmgcs2 は脂肪細胞において内因性に発現しており摂食と比較して絶食で最も増強する遺伝子であること、脂肪細胞はケトン体 3HBA を産生・分泌すること、Hmgcs2 は 3HBA・グルココルチコイド ( Dex )・インスリンといった絶食/摂食で変化する因子により制御されること、が明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shigeki Nishitani, Atsunori Fukuhara, Issei Tomita, Shinji Kume, Jihoon Shin, Yosuke Okuno, Michio Otsuki, Hiroshi Maegawa, Iichiro Shimomura	4. 巻 12 (1)
2. 論文標題 Ketone body 3-hydroxybutyrate enhances adipocyte function.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 10080
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-14268-w.	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7件（うち招待講演 3件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 西谷重紀、福原淳範、下村伊一郎
2. 発表標題 Adipocytes and Ketone Body 3-Hydroxybutyrate
3. 学会等名 第66回日本糖尿病学会年次学術集会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 西谷重紀、福原淳範、下村伊一郎
2. 発表標題 ケトン体による脂肪細胞機能制御
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 西谷重紀、福原淳範、下村伊一郎
2. 発表標題 Adipocytes and Ketone Body 3-Hydroxybutyrate
3. 学会等名 第27回アディポサイエンスシンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 西谷重紀、福原淳範、下村伊一郎
2. 発表標題 ケトン体による脂肪細胞機能制御
3. 学会等名 第95回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西谷重紀、福原淳範、大月道夫、下村伊一郎
2. 発表標題 ケトン体による脂肪細胞機能制御
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西谷重紀、福原淳範、大月道夫、下村伊一郎
2. 発表標題 ケトン体の脂肪細胞機能への影響
3. 学会等名 第24回・第25回日本病態栄養学会年次学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西谷重紀、福原淳範、大月道夫、下村伊一郎
2. 発表標題 ケトン体による脂肪細胞機能制御
3. 学会等名 第42回日本肥満学会年次学術集会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 西谷重紀, 福原淳範, 下村伊一郎	4. 発行年 2022年
2. 出版社 株式会社メディカルレビュー社	5. 総ページ数 98
3. 書名 The Lipid	

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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