

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2011～2013

課題番号：23249042

研究課題名(和文) 過栄養状態の肝臓が産生するタンパクと生活習慣病の関連

研究課題名(英文) Liver producing hormones and life style related diseases

研究代表者

金子 周一 (KANEKO, Shuichi)

金沢大学・医学系・教授

研究者番号：60185923

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 37,200,000円、(間接経費) 11,160,000円

研究成果の概要(和文)：肝臓が産生する新規のタンパク(ヘパトカイン)と糖尿病を中心とする生活習慣病との関連を解析した。我々は、ヘパトカインとしてセレノプロテインPを同定したが(Cell Metabolism 2010)、このヘパトカインが脂肪組織および筋組織と関連してインスリン抵抗性を引き起こすこと(Pros one 2012, 2014)、このヘパトカインに対する薬剤のひとつがメトフォルミンであることを明らかにした(J Biol Chem 2014)。新規のヘパトカインとして leukocyte cell-derived chemotaxin 2 (LECT2)を同定し(Diabetes 2014)研究を行った。

研究成果の概要(英文)：Influence of liver producing hormones, termed as hepatokine, on life style disease s such as diabetes were studied. Selenoprotein P was published as the first hepatokine in Cell Metabolism 2010 from our laboratory. Selenoprotein P induces insulin resistance coordinated with adipose and muscle tissues (published in Pros One 2012, and 2014, respectively). Expression of Selenoprotein was decreased by the treatment of metformin (J Biol Chem 2014). Another hepatokine, leukocyte cell-derived chemotaxin 2, was newly identified (Diabetes 2014).

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：ゲノム 発現制御 肝臓 栄養 生活習慣病

1. 研究開始当初の背景

肝臓は、糖・タンパク・脂質の代謝や薬物および異物の解毒を専門とする巨大な臓器である。21世紀の最大の課題である動脈硬化、糖尿病、癌、炎症をはじめ過栄養状態が関与する症候群に肝臓の機能破綻が大きく関与している可能性がある。

過剰の栄養が肝臓におよぼす影響として脂肪肝がある。我々は先の基盤研究(S)において糖尿病、脂質異常症、肥満症の肝臓において糖・タンパク・脂質・エネルギー代謝が大きく変動していることを示し、その変動がもたらす全身への影響から、こうした病態を新たな肝臓病としてとらえることの重要性を示した。さらに、脂肪組織からアディポカインが放出されるように、肝臓からセレノプロテインPが血液中に放出され、糖尿病を悪化させることを世界ではじめて示した。このような肝臓が産生するタンパクをヘパトカイン (hepatokine) と命名した (Cell Metabolism 2010)。即ち、糖尿病など栄養状態が関与する症候群に対する戦略をたてるうえで、こうした肝臓の状態を明確にとらえ、ヘパトカインに対する基盤的な研究を行うことが重要であることを示した。

そこで本研究は、先の研究成果を発展させ、病態を詳細に解析し、その診断および治療法開発の基盤となるべき研究を行う。

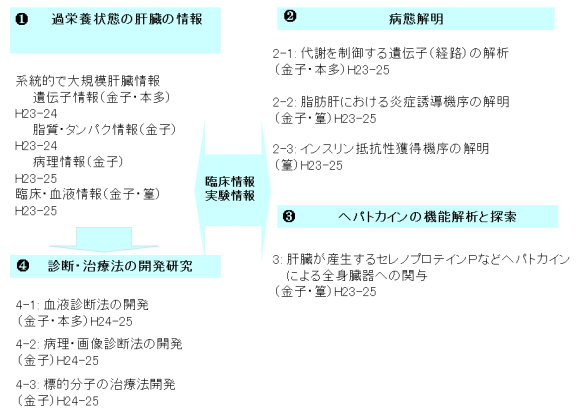
2. 研究の目的

糖尿病など栄養状態が関与する疾病に対して代謝の専門臓器である肝臓の研究が重要である。本研究では、過剰に摂取される栄養によって肝臓の機能が大きく障害されていることを、遺伝子・タンパク・脂質の系統的な解析から明らかにし、その病態を研究する。また、我々が明らかにした肝臓から産生される新規のタンパク (ヘパトカイン) であるセレノプロテインPの研究をすすめ、糖尿病の病態を悪化させる機序を解析する。同様に他のヘパトカインの探索を行う。これによって過栄養状態の肝臓を標的とする新たな診断・治療法開発の基盤研究を行う。

3. 研究の方法

本研究は大きく4つの研究要素、(1)過栄養状態の肝臓の情報、(2)病態の解明、(3)ヘパトカインの機能解析と探索、(4)診断・治療法の研究開発からなる。平成23年度に(1)、(2)、(3)を実施し、平成24年度から25年度は、これらを継続するとともに(4)の研究を実施する。臨床情報と実験から得られる情報を相互に用いて効率よく研究をすすめる。具体的には、過栄養状態にある肝臓の発現遺伝子、タンパク、脂質の情報と臨床情報を整備する。ヒトおよびこれまで作製した実験動物の肝臓を対象に、過栄養状態の肝臓における、代謝遺伝子の制御、炎症誘導機序、インスリン抵抗性獲得の機序を解析し、背景にある肝臓の病態を研究する。診断

および治療の標的となる分子を明らかにする。トランスジェニックマウス、ノックアウトマウスを含めた実験系を用いてセレノプロテインPの調節機構、機能解析をすすめる。全身の血管系に及ぼす影響を明らかにする。レセプターのクローニングを試みる。セレノプロテインPを精製し、モノクローナル抗体を作製し、診断および治療法の開発を進める。すでに特許化している多数のヘパトカイン候補を解析し、新たなヘパトカインを探索する。



4. 研究成果

インスリン抵抗性の機序のひとつに脂肪組織におけるマクロファージの動態が重要であるとされている。我々はマクロファージの動態に重要なケモカインとの関連を検討した。ケモカイン CCR5 の -/-マウスはインスリン抵抗性から保護されており、マクロファージの関与が少ないことを示した。さらに CCR-/-マウスの骨髄を移入することによっても耐糖能障害が回避されることを示した (Diabetes 2012)。

我々がヘパトカインと命名したセレノプロテインPが及ぼすアディポネクチンとの関連を検討した。2型糖尿病患者においては、セレノプロテインP値はアディポネクチンと負に相関しており、年齢、体重、インスリン感受性と独立していた。セレノプロテインP -/-マウスにおいてはアディポネクチン値が上昇していた (Plos One 2012)。このようにセレノプロテインPは脂肪組織に働いて、インスリン抵抗性、動脈硬化と関連するアディポネクチンの制御に関与する可能性が示唆された。

インスリン抵抗性の機序のひとつに ER ストレスとの関連を研究してきたが、その ER ストレスを引き起こす機序についてさらに詳細に解析をすすめる。そこにはプロテアソームの機能異常があるという独創的な研究を行った (Diabetes 2013)。また、慢性肝障害にいたるとアミノ酸代謝が攪乱していること、同時に耐糖能異常が認められることが臨床的に明らかになっていった。そこで我々は分岐鎖アミノ酸が慢性肝障害患者の耐糖能異常において重要な役割を果たしていること

を明らかにした (Metabolism 2012)。

セレノプロテインPの発現は広く糖尿病治療薬として用いられているメトフォルミン投与によって減弱した。この結果は、メトフォルミンの新しい作用機序を示すとともに、セレノプロテインPを標的とする治療法のひとつがメトフォルミン投与であることを示すものであった(J Biol Chem 289(1):335-45, 2014)。また、新規のヘパトカインとして leukocyte cell-derived chemotaxin 2 (LECT2)を同定した。LECT2は肥満と筋肉におけるインスリン抵抗性と相関し、飢餓センサーである AMPK と拮抗して発現しており、満腹センサーとして働いていることが考えられた。LECT2欠損マウスはインスリン感受性が亢進し、LECT2の投与はJNKのリン酸化によりインスリンシグナルを障害していた (Diabetes Jan 29, 2014 [Epub ahead of print])。

セレノプロテインPおよびLECT2は脂肪肝から産生されるが、脂肪肝が及ぼすインスリン抵抗性と、脂肪組織および筋肉の脂肪が及ぼすインスリン抵抗性との関連は不明であった。インスリンクランプ法、肝生検、MRSを用いて69例のヒトにおける臓器のインスリン抵抗性を解析したところ、脂肪組織および筋肉の脂肪化ではなく、肝臓の脂肪化が肝臓のインスリン抵抗性のみならず筋肉のインスリン抵抗性と相関していた (PLoS One 9(3): e92170, 2014)。

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17件) 全て査読有

1. F Lan, H Misu, K Chikamoto, H Takayama, A Kikuchi, K Mohri, N Takata, H Hayashi, N Matsuzawa-Nagata, Y Takeshita, H Noda, Y Matsumoto, T Ota, T Nagano, M Nakagen, KI Miyamoto, K Takatsuki, T Seo, K Iwayama, K Tokuyama, S Matsugo, H Tang, Y Saito, S Yamagoe, S Kaneko, T Takamura. LECT2 functions as a hepatokine that links obesity to skeletal muscle insulin resistance. Diabetes. 2014 (in press)
2. Y Takeshita, T Takamura, M Honda, Y Kita, Y Zen, KI Kato, H Misu, T Ota, M Nakamura, K Yamada, H Sunagozaka, K Arai, T Yamashita, E Mizukoshi, S Kaneko. The effects of ezetimibe on non-alcoholic fatty liver disease and glucose metabolism: a randomised controlled trial. Diabetologia. 57(5):878-90, 2014. doi: 10.1007/s00125-013-3149-9.
3. K Kato, T Takamura, Y Takeshita, Y Ryu, H Misu, T Ota, K Tokuyama, S Nagasaka, M Matsuhisa, O Matsui, S Kaneko. Ectopic fat accumulation and distant organ-specific insulin resistance in Japanese people with nonalcoholic Fatty liver disease. PLoS One. 9(3): e92170, 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0092170.
4. M Honda, T Shirasaki, T Shimakami, A Sakai, R Horii, K Arai, T Yamashita, Y Sakai, T Yamashita, H Okada, K Murai, M Nakamura, E Mizukoshi, S Kaneko. Hepatic interferon-stimulated genes are differentially regulated in the liver of chronic hepatitis C patients with different interleukin 28B genotypes. Hepatology. 59(3):828-38, 2014. doi:10.1002/hep.26788.
5. H Takayama, H Misu, H Iwama, K Chikamoto, Y Saito, K Murao, A Teraguchi, F Lan, A Kikuchi, R Saito, N Tajima, T Shirasaki, S Matsugo, KI Miyamoto, S Kaneko, T Takamura. Metformin Suppresses Expression of the Selenoprotein P gene via an AMPK-FoxO3a Pathway in H4IIEC3 Hepatocytes. J Biol Chem. 289(1):335-45, 2014. doi: 10.1074/jbc.M113.479386.
6. A Seki, S Y akai, T Komura, A Nasti, K Yoshida, M Higashimoto, M Honda, S Usui, M Takamura, T Takamura, T Ochiya, K Furuichi, T Wada, S Kaneko. Adipose tissue-derived stem cells as a regenerative therapy for a mouse steatohepatitis-induced cirrhosis model. Hepatology. 58(3):1133-42, 2013. doi:10.1002/hep.26470.
7. T Yamashita, M Honda, Y Nakamoto, M Baba, K Nio, Y Hara, SS Zeng, TH Kondo, H Takatori, T Yamashita, E Mizukoshi, H Ikeda, Y Zen, H Takamura, XW Wang, S Kaneko. Discrete nature of EpCAM(+) and CD90(+) cancer stem cells in human hepatocellular carcinoma. Hepatology. 57(4):1484-97, 2013. doi: 10.1002/hep.26168.
8. H Ando, T Otda, H Ookami, Y Nagai, A Inano, T Takamura, K Ushijima, K Hosohata, E Matsushita, T Saito, S Kaneko, A Fujimura. Dosing time-dependent effect of raloxifene on plasma plasminogen activator inhibitor-1 concentrations in post-menopausal women with osteoporosis. Clin Exp Pharmacol Physiol. 40(3):227-32, 2013. doi:10.1111/1440-1681.12055.
9. T Otda, T Takamura, H Misu, T Ota, S Murata, H Hayashi, H Takayama, A Kikuchi, T Kanamori, KR Shima, F Lan, T Takeda, S Kurita, K Ishikura, Y Kita,

- K Iwayama, KI Kato, M Uno, Y Takeshita, M Yamamoto, K Tokuyama, S Iseki, K Tanaka, S Kaneko. Proteasome dysfunction mediates obesity-induced endoplasmic reticulum stress and insulin resistance in the liver. *Diabetes*. 62(3):811-24, 2013. doi:10.2337/db11-1652.
10. Y Takeshita, T Takamura, Y Kita, H Ando, T Ueda, K Kato, H Misu, H Sunagozaka, Y Sakai, T Yamashita, E Mizukoshi, M Honda, S Kaneko. Beneficial effect of branched-chain amino acid supplementation on glycemic control in chronic hepatitis C patients with insulin resistance: implications for type 2 diabetes. *Metabolism*. 61(10):1388-94, 2012. doi:10.1016/j.metabol.2012.03.011.
11. Y Kita, T Takamura, H Misu, T Ota, S Kurita, Y Takeshita, M Uno, N Matsuzawa-Nagata, K Kato, H Ando, A Fujimura, K Hayashi, T Kimura, Y Ni, T Otda, K Miyamoto, Y Zen, Y Nakanuma, S Kaneko. Metformin prevents and reverses inflammation in a non-diabetic mouse model of nonalcoholic steatohepatitis. *PLoS One*. 7(9):e43056, 2012. doi:10.1371/journal.pone.0043056.
12. T Takamura, H Misu, T Ota, S Kaneko. Fatty liver as a consequence and cause of insulin resistance: Lessons from type 2 diabetic liver. *Endocr J*. 59(9):745-63, 2012. なし
13. H Kitade, K Sawamoto, M Nagashimada, H Inoue, Y Yamamoto, Y Sai, T Takamura, H Yamamoto, K Miyamoto, H N. Ginsberg, N Mukaida, S Kaneko, T Ota. CCR5 plays a critical role in obesity-induced adipose tissue inflammation and insulin resistance by regulating both macrophage recruitment and M1/M2 status. *Diabetes*. 61(7):1680-90, 2012. doi:10.2337/db11-1506.
14. H Ando, S Kurita, A Shimizu, K Kato, K Ishikura, K Taji, M Uno, Y Takeshita, H Misu, A Fujimura, S Kaneko, T Takamura. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of insulin aspart in patients with Type 2 diabetes: Assessment using a meal tolerance test under clinical conditions. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 39(6):528-34, 2012. doi:10.1111/j.1440-1681.2012.05708.x.
15. H Misu, K Ishikura, S Kurita, Y Takeshita, T Ota, Y Saito, K Takahashi, S Kaneko, T Takamura. Inverse correlation between serum levels of selenoprotein P and adiponectin in patients with type 2 diabetes. *PLoS One*. 7(4):e34952, 2012. doi:10.1371/journal.pone.0034952.
16. K Kimura, T Yamada, M Matsumoto, Y Kido, T Hosooka, S Asahara, T Matsuda, T Ota, H Watanabe, Y Sai, K Miyamoto, S Kaneko, M Kasuga, H Inoue. Endoplasmic reticulum stress inhibits STAT3-dependent suppression of hepatic gluconeogenesis via dephosphorylation and deacetylation. *Diabetes*. 61(1):61-73, 2012. doi:10.2337/db10-1684.
17. M Sakurai, K Nakamura, K Miura, T Takamura, K Yoshita, Y Morikawa, M Ishizaki, T Kido, Y Naruse, Y Suwazono, S Kaneko, S Sasaki, H Nakagawa. Dietary glycemic index and risk of type 2 diabetes in middle-aged Japanese men. *Metabolism*. 61(1):47-55, 2012. doi:10.1016/j.jada.2010.09.014.

〔その他〕
ホームページ等
<http://m-kanazawa.jp/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

金子 周一 (KANEKO SHUICHI)
金沢大学・医学系・教授
研究者番号：60185923

(2)研究分担者

篁 俊成 (TAKAMURA TOSHINARI)
金沢大学・医学系・教授
研究者番号：00324111

本多 政夫 (HONDA MASAO)
金沢大学・保健学系・教授
研究者番号：00272980