

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 7 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591300

研究課題名(和文)原因遺伝子の発生工学的解析によるメタボリックシンドロームの病態メカニズムの解明

研究課題名(英文)Elucidation of the mechanism of metabolic syndrome due to the gene targeting analysis of the causative gene

研究代表者

飯塚 陽子 (Iizuka, Yoko)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40420244

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：【目的・方法】KAT-1の発生工学的解析を通し、その生理機能とメタボリックシンドロームの成因を探る。【成績・結論】KAT-1ノックアウトマウスはSHRと同様に、普通食・12週間高塩食下において有意な血圧と脈拍の上昇を示し、高塩食下における24時間蓄尿中のカテコラミン分泌の亢進を呈し、血中アルドステロン濃度の亢進・レニン活性の低下を示し、普通食下において空腹時血糖値の有意な上昇とインスリン負荷試験によるインスリン抵抗性の亢進を示し、活動度の増加に伴い、高脂肪食下における体重・脂肪組織重量の増加率の減少を示した。KAT-1はメタボリックシンドロームの新たな治療標的となる可能性が強く示唆された。

研究成果の概要(英文)：[Purpose and methods] Through the gene targeting analysis of KAT-1, I explore the origin of metabolic syndrome and its physiological function. [Results and conclusions] As with the SHR, KAT-1 knockout mice exhibited an increase in blood pressure and heart rate significant in a normal diet and 12 weeks high salt diet, exhibited enhanced catecholamine secretion of 24-hour urine in high salt diet, showed an increase in plasma aldosterone concentration and a decreased in renin activity, showed a significant increase in fasting blood glucose levels and the enhancement of insulin resistance by insulin tolerance test in normal diet. Along with the increase in activity, and showed a decrease in the rate of increase in body weight, adipose tissue weight in the high-fat diet. It was strongly suggested that KAT-1 is a potential new therapeutic targets for metabolic syndrome.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：メタボリックシンドローム インスリン抵抗性 高血圧 交感神経活動亢進 原因候補遺伝子 高血圧 自然発症ラットSHR ノックアウトマウス 尿崩症

1. 研究開始当初の背景

(1)動脈硬化発症の原因として、高インスリン血症や耐糖能異常、本態性高血圧症や脂質代謝異常、内臓脂肪蓄積などの危険因子の重複が重要視され、メタボリックシンドロームの存在が注目されている。これら複数の危険因子の重複は、各危険因子が病因上互いに密接に関連しており、共通の因子に異常が存在する場合や、各々の異常の原因となる遺伝子が染色体上で近接して存在するため、各個体と一緒に伝播される場合などが考えられる。

(2)高血圧自然発症ラット(SHR)は、高血圧を指標とした選択交配の繰り返しにより確立された本態性高血圧症のモデル動物であり、同時に糖・脂質代謝異常等を呈する、いわゆるメタボリックシンドロームの良いモデル動物でもありとされている。SHRにおける高血圧を含むこれらの異常は、複数の遺伝因子と環境因子によって生じている複合遺伝形質(complex trait)であり、これらの原因遺伝子自体はまだ明らかではないのが現状である。

(3)SHRにおけるインスリン抵抗性原因遺伝子の染色体上での局在は、いわゆるQuantitative Trait Locus(QTL)解析によって同定されつつある。

2. 研究の目的

(1)われわれはこれまでに、メタボリックシンドロームのモデル動物であるSHRの3番染色体には高血圧と低体重、脂肪細胞でのインスリン抵抗性と脂肪分解障害に連鎖するQTLが集簇し、その原因候補遺伝子としてKAT-1(kynurenine aminotransferase-1)遺伝子を同定し、SHRのKAT-1にはSHRに特異的な機能的変異(E61G)が存在することなどを報告して来た。

(2)一方でSHRの延髄では、KAT-1の活性とその代謝産物であるキヌレン酸含量の減少が見られ、延髄吻側腹外側野(RVLM)へのキヌレン酸の選択的投与により血圧や脈拍が減

少することが報告されている。

(3)また、KAT-1を発現するアデノウイルスをRVLMに選択的に導入による過剰発現したSHRでは、血圧、脈拍、カテコラミン分泌の減少が見られ、これとは鏡像関係に、KAT-1のRNAiアデノウイルスをRVLMに選択的に導入によるknockdownしたWKYでは血圧、脈拍、カテコラミン分泌の上昇が見られることを報告してきた。

(4)本研究では、KAT-1の発生工学的解析を通し、その生理機能とメタボリックシンドロームの成因を探る。

3. 研究の方法

(1)ジーンターゲット法を用い、遺伝子相同組み換えにより、SHRにみられたKAT-1の変異部分および開始コドンを含むエクソン1-2の領域を欠失するデザインに基づき、KAT-1を完全欠損するノックアウト(KO)マウスを作製した。

(2)欠損マウスの各種表現型の解析に関しては、tail-cuff法およびtelemetryシステム法による血圧を含む血行動態の評価、24時間蓄尿中のカテコラミン分泌の測定による交感神経活動の評価、insulin tolerance test(ITT)によるインスリン抵抗性の評価、糖・脂質代謝、体重、飲水量、尿量等の評価を行った。

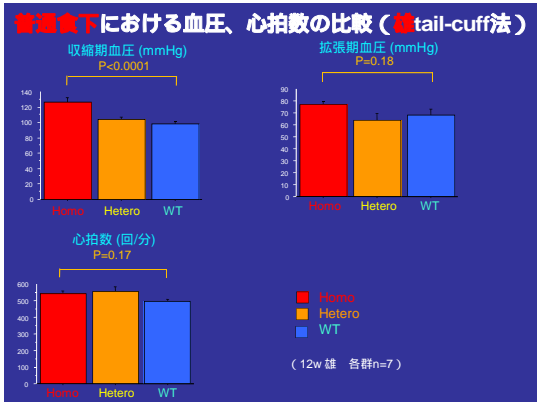
(3)また、12週間高塩食、高脂肪食負荷下における解析も行った。

4. 研究成果

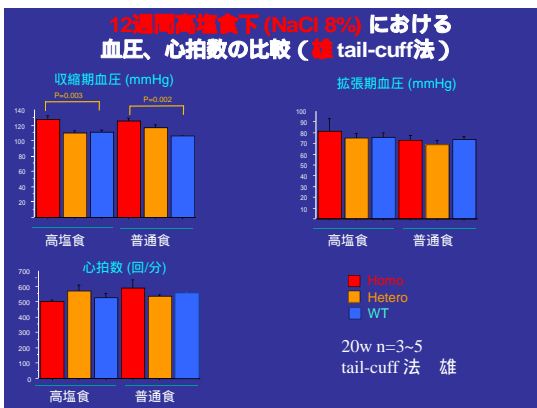
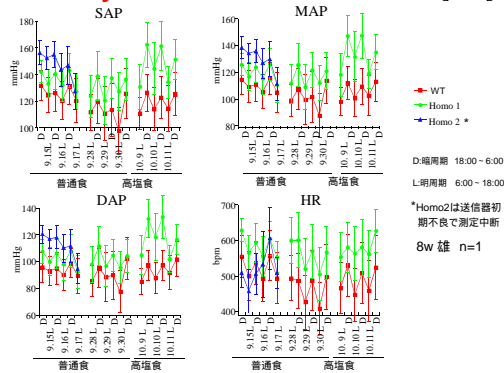
(1)KAT-1のKOホモマウスの各組織において、KAT-1の発現がリアルタイムPCR法・northern blot法によるmRNAレベル、およびwestern blot法による蛋白レベルとも欠損していることを確認した。

(2)KAT-1のKOホモマウスは正常に出産・発育し、SHRと同様に、普通食下において、tail-cuff法およびtelemetryシステム法により有意な血圧と脈拍の上昇、活動力の亢進

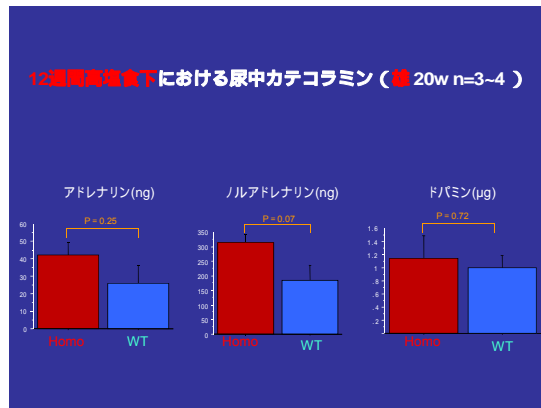
を示し、12週間高塩食下において、血圧の更なる上昇を示し、この傾向はマウスの交感神経活動が高まる夜間により顕著に認められた。



telemetry法による血圧、心拍数の比較 (雄)

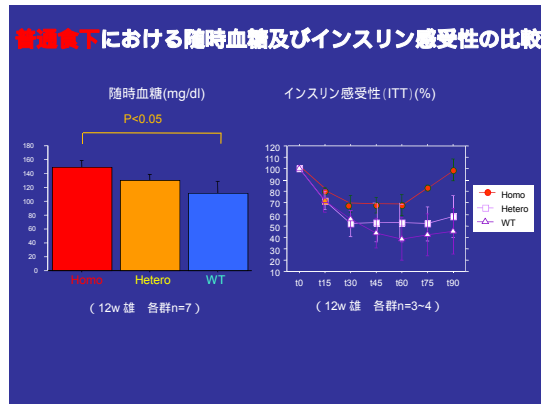


(3)さらに、高塩食下における24時間蓄尿中のカテコラミン分泌の亢進を呈した。

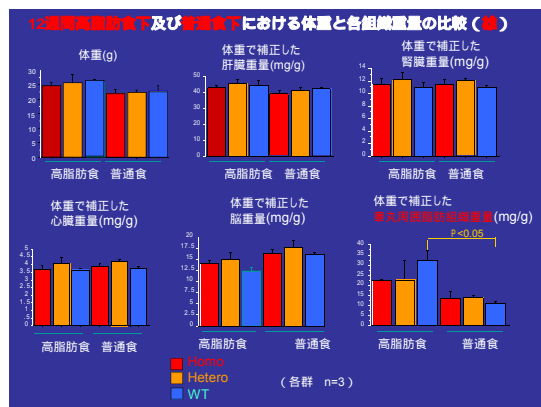


(4) 血中アルドステロン濃度の亢進・レニン活性の低下を示した。

(5) 普通食下において、空腹時血糖値の有意な上昇とインスリン負荷試験によるインスリン抵抗性の亢進を示し、高脂肪食下における空腹時血糖値の更なる上昇を示した。



(6)そして、活動度の増加に伴い、高脂肪食下における体重・脂肪組織重量の増加率の減少を示した。



(7)一方、SHRには認められない多飲・低張性

多尿などの尿崩症症状を呈した。

(8) 多飲・多尿は日中・夜間とも見られ、この傾向はマウスの活動時間帯である夜間により顕著に認められた。

(9) 飲水制限により、尿量の減少・尿浸透圧の上昇が認められた。

(10) バソプレシン投与により低張性多尿の改善を認められた。

結論

(1) KAT-1 の KO ホモマウスは低体重、血圧上昇、血糖上昇、インスリン抵抗性亢進など、SHR と多くの表現型が共通しており、SHR にみられる多様な病態の背景に KAT-1 の異常が深く関わる可能性が再確認された。

(2) また、それらの異常がラットとマウスの種差を越えて KAT-1 の異常によって引き起こされていることが示された。

まとめ					
	血圧	交感神経	血糖値	インスリン抵抗性	体重
SHR(KAT-1 Glu61Gly)	↑	↑	↑	↑	↓
KAT-1 欠損マウス	↑	↑	↑	↑	↓

(3) 一方、多飲・低張性多尿などの尿崩症症状に関しては、KAT-1 の KO ホモマウスは SHR と大きく異なることが明らかになった。

考察

(1) KAT-1 が血行動態に加え、体液バランスの調節にも関与することが示唆され、KAT-1 の欠損が心因性多飲症モデルとなる可能性が考えられる。

(2) また、KAT-1 はメタボリックシンドロームの新たな治療標的となる可能性が強く示唆された。

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 2 件)

第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会(2011 年 5 月 19~21 日, 札幌)

・飯塚陽子, 大須賀淳一, 喬荊, 武内謙憲, 高瀬暁, 高梨幹生, 西真貴子, 久保田みどり, 升田紫, 熊谷真義, 太田啓介, 山本隆史, 泉田欣彦, 矢作直也, 大橋健, 島野仁, 石橋俊, 藤田敏郎, 山田信博, 後藤田貴也, 門脇孝:「SHR のメタボリックシンドローム原因候補遺伝子(KAT-1)の欠損マウスを用いた生理的機能の解明」

第 26 回日本糖尿病合併症学会(2011 年 10 月 14~15 日, 大宮)

・飯塚陽子, 喬荊, 大須賀淳一, 武内謙憲, 高瀬暁, 高梨幹生, 西真貴子, 久保田みどり, 升田紫, 熊谷真義, 太田啓介, 山本隆史, 泉田欣彦, 矢作直也, 大橋健, 島野仁, 石橋俊, 藤田敏郎, 山田信博, 後藤田貴也, 門脇孝:「SHR のメタボリックシンドローム原因候補遺伝子(KAT-1)欠損マウスを用いたその生理的機能の解明」

6. 研究組織

(1) 研究代表者

飯塚 陽子 (IIZUKA, Yoko)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号: 40420244

(2) 研究分担者

矢作 直也 (YAHAGI, Naoya)
筑波大学・医学医療系・准教授
研究者番号: 60420246