

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 30 日現在

機関番号：17601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23780296

研究課題名（和文）新規エネルギー代謝調節因子による抗肥満メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of anti-obesity mechanism by new energy metabolism regulatory factor

## 研究代表者

秋枝 さやか (AKIEDA SAYAKA)

宮崎大学・フロンティア科学実験総合センター・助教

研究者番号：20549076

研究成果の概要（和文）：申請者は、高脂肪食を持続摂取しても肥満を呈さない高脂肪食耐性（diet-resistant；DR）ラットの腸間膜脂肪組織を用いて、DR特異的に発現する遺伝子をDNAマイクロアレイにより網羅的に解析した。その結果、DRラットではペプチドホルモンであるグアニリン(Gn)とその受容体であるグアニル酸シクラーゼC(GC-C)がマクロファージに高発現していることを見出した。また、マクロファージ特異的にグアニリン/GC-Cを導入した遺伝子改変動物(ダブルTgラット)を作製し、同Tgラットにおいても高脂肪食耐性を示すことを明らかにした。以上の結果から、マクロファージのグアニリン/GC-Cシステムは、脂質代謝の制御を通じて脂肪蓄積抑制に機能することが示された。

研究成果の概要（英文）：A high-fat diet (HFD) is a well-known contributing factor in the development of obesity. Most rats fed HFDs become obese. Those that avoid obesity when fed HFDs are considered diet resistant (DR). We performed a microarray screen to identify genes specific to the mesenteric fat of DR rats and revealed high expression of guanylin and guanylyl cyclase C (GC-C) in some subjects. Our histologic studies revealed that the cellular source of guanylin and GC-C is macrophages. Therefore, we developed double-transgenic (Tg) rats overexpressing guanylin and GC-C in macrophages and found that they were resistant to the effects of HFDs. Our results suggest that the macrophagic guanylin-GC-C system contributes to the altered expression of genes involved in lipid metabolism, leading to resistance to obesity.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学・基礎獣医学・基礎畜産学

キーワード：マクロファージ, 脂肪細胞, 肥満, 高脂肪食耐性動物, エネルギー代謝調節

## 1. 研究開始当初の背景

脂肪細胞の肥大化には、脂肪滴の汲み出しに関与するイオンチャネルやそれらを制御する細胞内シグナル伝達、さらには肥大化した脂肪細胞から分泌されるケモカインによる炎症性マクロファージ動員の重要性などが明らかにされている。しかし、多くの基礎研究や疫

学研究が、脂肪細胞の肥大化や肥満症と免疫細胞の密接な関連を示しているにもかかわらず、脂肪細胞の分化・肥大化のメカニズム、エネルギーホメオスタシス破綻機構や肥満発症に関与する分子メカニズムの全容は未だ解明されていない。

## 2. 研究の目的

申請者は、高脂肪食を持続摂取しても体重増加を認めず、腸間膜脂肪蓄積のきわめて少ない高脂肪食耐性ラット (diet-resistant; DR) を見出し、DRラットの代謝特性と分子基盤に関する研究を進めてきた。本研究では、DRラットの代謝特性につながるいくつかの候補分子同定し、同候補分子についてin vivoおよびin vitroでそれらの機能を確認する。また、同候補分子を導入した遺伝子改変動物(Tgラット)の詳細な機能解析を行うことで、肥満制御に関わる新たな生体システムを解明することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### 1) DR特異的発現遺伝子の検討

DRラットは特に内臓脂肪の蓄積が少ないことから、脂肪蓄積抑制に関与する遺伝子を同定するために、腸間膜脂肪組織のDNAマイクロアレイ解析により、DR特異的に発現する遺伝子を検討した。また、DR特異的発現遺伝子の組織内局在を明らかにした。

### 2) DR特異的発現遺伝子による脂肪蓄積抑制効果の検討

1)で同定した遺伝子が脂肪蓄積を制御するか否かを検討した。

### 3) 遺伝子改変動物の作製

1)で同定した遺伝子を導入した改変動物(Tgラット)を作製し、高脂肪食耐性の獲得機構を個体レベルで解析した。

## 4. 研究成果

### 1) DR 特異的発現変動遺伝子の検討

DR、高脂肪食肥満(DIO)、コントロールラットの腸間膜脂肪組織のDNAマイクロアレイ解析の結果、DRラットでは、ペプチドホルモン；グアニリン(Gn)とその受容体；グアニル酸シクラーゼC(GC-C)が、特異的に高発現していた。また、Gn/GC-Cは腸間膜脂肪組織のマクロファージに発現していることを明らかにした。

### 2) DR特異的発現変動遺伝子による脂肪滴蓄積抑制効果の検討

Gn/GC-C発現マクロファージと初代脂肪細胞との共培養系を用いて脂肪細胞の分化や脂肪滴蓄積について検討した。Gn/GC-Cと脂肪細胞を共培養すると、脂肪滴の蓄積が顕著に低下した。また、siRNAによりGn/GC-Cの発現を抑制したマクロファージを作成し、この細胞と脂肪細胞を共培養した結果、脂肪滴の蓄積抑制効果が認められなくなった。これらの結果から、Gn/GC-Cシステムは脂肪の蓄積を制御していることが示唆された。

### 3) 遺伝子改変動物の作製

Scavenger-receptor Aをプロモーターに持つGn/GC-Cをマクロファージ特異的に発現させたダブルノックイン Tgラットを作製した。同Tgラットに通常食を食べさせた場合には、摂餌量や体重に野生型(WT)との差は認められなかったが、高脂肪食を食べさせた場合には、WTと摂餌量は変わらないものの体重増加や脂肪組織の脂肪蓄積が低下し、脂肪肝も認められなかった。これらの結果から、Gn/GC-Cシステムによる脂肪蓄積抑制効果がin vivoでも確認できた。

## 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5件)

- (1) Akieda-Asai S, Koda S, Sugiyama M, Hasegawa K, Furuya M, Miyazato M, Date Y: Metabolic features of rats resistant to a high-fat diet, *Obesity Res Clin Practice*, in press, 査読有 DOI: 10.1016/j.orcp.2013.01.004
- (2) Akieda-Asai S, Sugiyama M, Miyazawa T, Koda S, Okano I, Senba K, Poleni PE, Hizukuri Y, Okamoto A, Yamahara K, Mutoh E, Aoyama F, Sawaguchi A, Furuya M, Miyazato M, Kangawa K, Date Y: Involvement of guanylin and GC-C in rat mesenteric macrophages in resistance to high-fat diet, *J Lipid Res*, 54, 85-96, 2013, 査読有 DOI: 10.1194/jlr.M029017.
- (3) Poleni PE, Akieda-Asai S, Koda S, Sakurai M, Bae C, Senba K, Cha Y, Furuya M, Date Y: Possible involvement of melanocortin-4-receptor and AMP-activated protein kinase in the interaction of glucagon-like peptide-1 and leptin on feeding in rats, *Biochem Biophys Res Commun*, 420, 36-41, 2012, 査読有 DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.02.109.
- (4) Akieda-Asai S, Ohta R, Shirota M, Jaroenporn S, Watanabe G, Taya K: Endocrinological differences between Hatano high- and low-avoidance rats during early two-way avoidance acquisition, *Exp Anim*, 60, 509-516, 2011, 査読有 DOI: 10.1538/expanim.60.509
- (5) Mutoh E, Senba K, Akieda-Asai S,

Miyashita A, Poleni PE, Date Y: Sex differences in energy metabolism in pre-pubescent, early pubescent and adult rats. *Obesity Res Clin Practice*, 5, e119-128, 2011, 査読有  
DOI:10.1016/j.orcp.2010.12.006

[学会発表] (計 18 件)

- (1) 秋枝さやか, 長谷川和哉, 保田昌宏, 伊達紫: マクロファージのグアニリン/GC-Cによる脂肪滴蓄積制御機構. 第155回日本獣医学会学術集会, 東京, March, 2013(プレナリーセッション大会長賞受賞者講演)
- (2) 伊達紫, 秋枝さやか: 肥満抵抗性ラットの解析. 第9回宮崎サイエンスキャンプ, 宮崎, February, 2013(招待講演)
- (3) Date Y, Akieda-Asai S, Kangawa K, Miyazato, M: Over expressions of guanylin and GC-C in rat mesenteric macrophages are involved in resistance to high-fat diet. Keystone symposia (Adipose Tissue Biology joint with Diabetes-New Insights into Mechanism of Disease and its Treatment), Colorado (USA), January, 2013
- (4) 秋枝さやか, 長谷川和哉, 伊達紫: 肥満抵抗性ラットから見出した生理活性物質による脂肪滴蓄積抑制作用. 第3回若手ペプチド・ホルモン研究会, 第37回日本比較内分泌学会大会・サテライト企画〜中堅・若手の会合同, 福井, November, 2012
- (5) 長谷川和哉, 秋枝さやか, 伊達紫: 肥満抵抗性ラットの炎症性マーカーの検討. 第3回若手ペプチド・ホルモン研究会, 第37回日本比較内分泌学会大会・サテライト企画〜中堅・若手の会合同, 福井, November, 2012
- (6) ペ・チョロン, 仙波和代, 秋枝さやか, 伊達紫: ソフトペレット(軟食)で飼育したラットは肥満と耐糖能異常を呈する. 第33回日本肥満学会, 京都, October, 2012
- (7) 伊達紫, 秋枝さやか, 長谷川和哉, 宮澤崇, 宮里幹也, 寒川賢治: グアニリン/グアニル酸シクラーゼCダブルトランスジェニックラットは肥満抵抗性を示す. 第33回日本肥満学会, 京都, October, 2012
- (8) 秋枝さやか, 宮澤崇, 宮里幹也, 寒川賢治, 伊達紫: 高脂肪食耐性(Diet-Resistant)ラット特異的発現遺伝子による脂肪滴蓄積制御. 第33回日本肥満学会, 京都, October, 2012
- (9) 秋枝さやか, ベチョロン, 長谷川和哉, 伊達紫: グルカゴン様ペプチド-1(GLP-1)とレプチンの同時投与による摂食抑制効果に関する分子機構. 第39回日本神経内分泌学会, 北九州, September, 2012
- (10) 秋枝さやか, 櫻井麻矢, 長谷川和哉, 伊達紫: 高脂肪食耐性ラット特異的発現遺伝子による脂肪滴蓄積抑制. 第154回日本獣医学会学術集会, 盛岡, September, 2012
- (11) 川端惇也, 保田昌宏, 那須哲夫, 秋枝さやか, 伊達紫: ウシの腸間膜脂肪におけるグアニルシクラーゼCとグアニリンによる脂肪滴蓄積抑制, 第154回日本獣医学会学術集会, 盛岡, September, 2012
- (12) 秋枝さやか, Poleni PE, 櫻井麻矢, 幸田修一, 古谷真優美, 伊達紫: グルカゴン様ペプチド-1(GLP-1)とレプチンの摂食抑制相乗効果に関する分子機構の解明. 第85回日本内分泌学会学術総会, 名古屋, April, 2012
- (13) 川端惇也, 保田昌宏, 那須哲夫, 秋枝さやか, 伊達紫: ウシのグアニル酸シクラーゼCとグアニリンの遺伝子発現の解析. 第153回日本獣医学会学術集会, 大宮, March, 2012
- (14) 秋枝さやか: 摂食調節とペプチドホルモン. 第2回ペプチド・ホルモン若手研究会, 広島, March, 2012
- (15) 伊達紫, 秋枝さやか, Poleni PE, 幸田修一, 古谷真優美: 摂食調節におけるGLP-1とレプチンの相乗効果に関する研究. 「中枢・末梢臓器連関による生体恒常性と仲介分子機構」研究会, 岡崎, February, 2012
- (16) Poleni PE, Akieda-Asai S, Senba K, Date Y: Synergistic action of glucagon-like peptide-1 with leptin on anorectic effect. 第32回日本肥満学会, 淡路, September, 2011
- (17) Poleni PE, Akieda-Asai S, Date Y: 摂食関連ペプチド; グルカゴン様ペプチド1とレプチンの相乗効果. 第5回トランスポーター研究会九州部会, 宮崎,

September, 2011

- (18) Akieda-Asai S, Sugiyama M, Miyazawa T, Koda S, Okano I, Senba K, Poleni PE, Hizukuri Y, Okamoto A, Mutoh E, Furuya M, Miyazato M, Kangawa K, Date Y: A new bioactive peptide and its receptor cascades prevent the accumulation of lipid droplets. Keystone Symposia (Lipid Biology and Lipotoxicity), Killarney (Ireland), May, 2011

[その他]

受賞

1. 第 155 回 日本獣医学会、大会長賞受賞 (2013 年)
2. 2012 年度 宮崎大学女性研究者奨励賞 (研究部門)
3. コスモバイオ学術論文賞 (J Lipid Res;2012 年)

ホームページ

<http://www.med.miyazaki-u.ac.jp/peptides/date/jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

秋枝 さやか (AKIEDA SAYAKA)  
宮崎大学・フロンティア科学実験総合センター・助教  
研究者番号：20549076

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし