

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 8 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23791011

研究課題名（和文）肝臓におけるアミノ酸代謝のメタボリックシンドローム形成に及ぼす役割

研究課題名（英文）Role of hepatic amino acid metabolism on the development of metabolic syndrome

研究代表者

宇野 健司（UNO KENJI）

東北大学・病院・助教

研究者番号：50596632

研究成果の概要（和文）：

飽食の時代下、メタボリックシンドロームの病態基盤として、肥満に伴う糖代謝や脂質代謝の制御異常が知られているが、三大栄養素の構成因子であるアミノ酸に関しては、その詳細な意義や役割は明らかではない。本研究では、組換えアデノウイルスによる後天的遺伝子導入法を用いて肝臓でのアミノ酸代謝を変化させたマウスを作製し、このモデルマウスの表現型の解析を主目的とする。このマウスでは、肝臓局所的にはアミノ酸代謝に関わる遺伝子発現に変化が見られ、また全身の代謝に変化がもたらされる結果が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Metabolism in different tissues/organs is regulated via both neuronal and humoral factors. We have previously demonstrated that neuronal networks, especially from the liver, play important roles in maintaining metabolic homeostasis among organs/tissues, including adipose tissue and pancreatic islets. Nutrient (carbohydrate, fat, and protein) overloads due to overeating affect these regulational systems, resulting in progression of metabolic disorders. In this study, we purpose to identify a new role of hepatic amino acid metabolism on the development of metabolic syndrome.

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	3,200,000	960,000	4,160,000

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：アミノ酸代謝、メタボリックシンドローム、肥満、mTOR

1. 研究開始当初の背景

昨今、個体の代謝は、各臓器の代謝が連携して相互作用することで成立していることが世界的に注目されている。研究代表者は、

肝臓での代謝変化が他の臓器・組織の代謝にいかなる影響を与えるかについて研究を継続している。肝臓では、肥満の進行に伴い、脂肪蓄積に重要な核内転写因子である

PPAR \cdot 、特に PPAR \cdot 2 の発現が増加し、脂肪肝の発症に寄与することが報告されている。そこで、組換えアデノウイルスを用いて PPAR \cdot 2 を肝臓へ過剰発現させたモデルマウスを解析することにより、肝臓を発信源とした神経系を介する新規の臓器間代謝調節機構の存在を証明した (Uno et al. Science 312, 1656-59, 2006)。この機構は、肝 PPAR \cdot 2 発現増加によるエネルギー蓄積を端緒として、迷走神経・交感神経系から成る神経ネットワークを介して、全身でのエネルギー消費を増加させる。これは過栄養の際の肥満進展防止に働き、個体としてのエネルギー代謝の恒常性を維持するという機能を担っていると考えられた。さらに、この臓器間連関機構が交感神経の活性化を通じて、肥満時の高血圧の形成に関与することも解明し (Uno et al. European Heart Journal 33, 1279-89, 2012)、肝臓からの神経シグナルの生理的役割と病態に及ぼす意義を提唱した。

以上のような研究代表者らによる研究成果に加えて、脳では視床下部が糖・脂質の変化を感知し、迷走神経遠心路を介して肝臓での糖新生や VLDL 合成を調節する機構が存在するとの報告 (Nat Med 13, 171-80, 2007 など) がある。また、ステロイドによる血圧の上昇において、肝臓の PPAR \cdot が関与していることが報告されている (Cell Metab 5, 91, 2007)。

このように、体内では肝と脳との代謝情報が相互に調節し合っていると考えられ、未来の治療法への応用を考える際に非常に注目を集めるトピックとなりつつある。

2. 研究の目的

飽食の時代下、メタボリックシンドロームの病態の基盤としては、肥満に伴う糖・脂質代謝の制御異常が知られ、治療ターゲットを

探索すべく様々な研究が行われている。しかし、三大栄養素の構成因子であるアミノ酸に関しては、肥満が形成されていく過程で、何らかの制御異常をきたすのか、あるいは、糖・脂質代謝とどのような連携を持つのか、詳細は明らかではない。

本研究では、これまでの研究背景を基盤とし、肝臓でのアミノ酸代謝の持つ新たな生理的な機能やメタボリックシンドロームにおける役割、他の栄養素の代謝への相関関係について、病態マウスモデルを用いて解明する。

3. 研究の方法

(1) アミノ酸トランスポーターの組換えアデノウイルスを作製、肝臓へ過剰発現させる、栄養状態の違いで肝臓でのアミノ酸トランスポーターの発現変化を検討、その中で組換えアデノウイルスを作製し、マウスに遺伝子導入しモデルマウスを作製する。

(2) 肝臓へのアミノ酸トランスポーター発現による全身の代謝に与える影響の検討、モデルマウスの代謝状況について、体重・摂食量などエネルギー代謝検討、血糖値や糖負荷・インスリン負荷試験による糖代謝検討、血中脂質による脂質代謝検討、等を行う。

(3) 肝臓へのアミノ酸トランスポーター発現による肝における代謝やシグナル経路に与える影響、

肝における各種詳細な代謝の検討として、肝内アミノ酸量・脂質含有量の測定、糖代謝・アミノ酸代謝・脂質代謝関連酵素の遺伝子発現検討、mTOR/S6K 経路のシグナル分子のリン酸化状態の検討、等を行う。

(4) 肝臓へのアミノ酸トランスポーター発現による他臓器・組織における代謝や遺伝子発現に与える影響、

肝以外の代謝関連組織として、筋・褐色脂肪・白色脂肪において、アミノ酸代謝・脂質代謝関連酵素の遺伝子発現検討、等を行う。

(5) 肝臓から他組織への遠隔代謝効果の機序の解明、

他組織や全身代謝に認められた代謝影響や遺伝子発現変化について、肝からの神経の切断や薬理的遮断等を行い、神経系の関与について検討を行う。

4. 研究成果

(1) アミノ酸トランスポーターのアデノウイルスを肝臓へ過剰発現、

空腹や食餌摂取状態、普通食や高脂肪食摂取、あるいは遺伝的肥満の状態など、生理的な範囲内の状況に応じて、マウス肝臓でのアミノ酸トランスポーターの発現を real time RT-PCR 法で検討した。その結果、アミノ酸トランスポーターは食餌摂取状態や肥満状態において発現が変化することが認められ、遺伝子組換え手法でアデノウイルスを作製した。このアデノウイルスを肝臓へ過剰発現すると、肝臓内のアミノ酸含量は増加し、アミノ酸代謝関連酵素の遺伝子発現に変化を認めた。また、下流のmTOR/S6K 経路のシグナル分子のリン酸化状態の検討から、その経路の活性化が認められた。これらの結果から、アミノ酸トランスポーターを過剰発現することで、実際に肝臓でのアミノ酸代謝やその下流の経路の変化がもたらされることが示唆された。

(2) 肝臓へのアミノ酸トランスポーターの過剰発現が全身の代謝に及ぼす影響、

糖・脂質・エネルギー代謝パラメーターの解析を行う中で、アミノ酸トランスポーターの肝臓への過剰発現により、特に脂質代謝に顕著な変化を認めた。現在、詳細な脂質プロファイルについては検討継続中である。

(3) 肝臓へのアミノ酸トランスポーターの過剰発現が肝の代謝に及ぼす影響、

肝臓での脂質代謝関連酵素の遺伝子変化を real time RT-PCR 法で検討した結果、脂肪合成に関与する遺伝子群の発現には変化を認め

なかった。次に、脂肪分泌に関与する遺伝子群の発現は肥満モデルに過剰発現した場合に変化を認めた。

(4) 肝臓へのアミノ酸トランスポーターの過剰発現が他臓器に及ぼす影響、

肝臓以外の代謝関連組織の筋(骨格筋や心筋)・脂肪組織における脂質代謝関連遺伝子の発現変化をreal-time RT-PCR 法にて検討した。その結果、筋組織や脂肪組織において、脂質代謝に関与するとされるリポ蛋白リパーゼ(LPL)の遺伝子発現には臓器間での差異を認めた。

(5) 肝臓から他組織への遠隔代謝効果の機序の検討、

これまでの研究背景を基に、肝臓からの神経系による関与を推定し、まず迷走神経肝臓枝の切断術を施行している。現在、神経シグナルの遮断が、先に認められた遠隔臓器の遺伝子発現変化にどのような影響を及ぼすのか検討を継続している。

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 7 件)

1. Kei Takahashi, Tetsuya Yamada, Sohei Tsukita, Keizo Kaneko, Yuta Shirai, Yuichiro Munakata, Yasushi Ishigaki, Junta Imai, Kenji Uno, Yutaka Hasegawa, Shojiro Sawada, Yoshitomo Oka, Hideki Katagiri. Chronic mild stress alters circadian expressions of molecular clock genes in the liver. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 304, E301-9, 2013. 査読有 doi: 10.1152/ajpendo.00388.2012
2. Tokuo Saito, Yutaka Hasegawa, Yasushi Ishigaki, Tetsuya Yamada, Junhong Gao, Junta Imai, Kenji Uno, Keizo Kaneko, Takehide Ogihara, Tatsuo Shimosawa,

Tomoichiro Asano, Toshiro Fujita, Yoshitomo Oka, Hideki Katagiri. Importance of endothelial NF- κ B signalling in vascular remodelling and aortic aneurysm formation. *Cardiovasc Res*, 97, 106-14, 2013. 査読有 doi: 10.1093/cvr/cvs298.

3. Sohei Tsukita, Tetsuya Yamada, Kenji Uno, Kei Takahashi, Keizo Kaneko, Yasushi Ishigaki, Junta Imai, Yutaka Hasegawa, Shojiro Sawada, Hisamitsu Ishihara, Yoshitomo Oka, Hideki Katagiri. Hepatic glucokinase modulates obesity predisposition by regulating BAT thermogenesis via neural signals. *Cell Metab*, 16, 825-32, 2012. 査読有 doi: 10.1016/j.cmet

4. Kenji Uno, Tetsuya Yamada, Yasushi Ishigaki, Junta Imai, Yutaka Hasegawa, Junhong Gao, Keizo Kaneko, Kimihiko Matsusue, Tomomi Yamazaki, Yoshitomo Oka, Hideki Katagiri. Hepatic peroxisome proliferator activated receptor- γ -fat-specific protein 27 pathway contributes to obesity-related hypertension via afferent vagal signals. *Eur Heart J*, 33, 1279-89, 2012. 査読有 doi: 10.1093/eurheartj/ehr265

5. Yutaka Hasegawa, Tokuo Saito, Takehide Ogihara, Yasushi Ishigaki, Tetsuya Yamada, Junta Imai, Kenji Uno, Junhong Gao, Keizo Kaneko, Tatsuo Shimosawa, Tomoichiro Asano, Toshiro Fujita, Yoshitomo Oka, Hideki Katagiri. Blockade of the nuclear factor- κ B pathway in the endothelium prevents insulin resistance and prolongs life spans. *Circulation*, 125, 1122-33, 2012. 査読有 doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.054346

6. Junhong Gao, Yasushi Ishigaki, Tetsuya Yamada, Keiichi Kondo, Suguru Yamaguchi, Junta Imai, Kenji Uno, Yutaka Hasegawa, Shojiro Sawada, Hisamitsu Ishihara, Seiichi Oyadomari, Masataka Mori, Yoshitomo Oka, and Hideki Katagiri. Involvement of endoplasmic stress protein C/EBP homologous protein in arteriosclerosis acceleration with augmented biological stress responses. *Circulation*. 124, 830-9, 2011. 査読有 doi: 10.1161/

7. 山本淳平、金子慶三、高橋圭、佐竹千尋、角田宇衣子、河野ひろ子、澤田正二郎、長谷川豊、宇野健司、今井淳太、山田哲也、石垣泰、岡芳知、片桐秀樹. 自己免疫性1型糖尿病の良好な加療経過中に、劇症1型糖尿病発症に類似する急激な増悪を呈した1例. *糖尿病*, 55, 122-128, 2012. 査読有

[学会発表] (計 9 件)

1. Yumiko Chiba, Kenji Uno, Hideki Katagiri. Hepatic DEPTOR Expression Improves Systemic Insulin Resistance. 72nd Scientific Sessions, American Diabetes Association. 2012. 6. 8-6. 12. USA

2. Sohei Tsukita, Tetsuya Yamada, Kenji Uno, Yoshitomo Oka, Hideki Katagiri. Hepatic Glucokinase Negatively Regulates BAT Thermogenesis via a Neural Pathway. 72nd Scientific Sessions, American Diabetes Association. 2012. 6. 8-6. 12. USA

3. 千葉弓子、宇野健司、金子慶三、澤田正二郎、長谷川豊、今井淳太、山田哲也、石垣泰、岡芳知、片桐秀樹、mTOR抑制因子であるDEPTORが糖エネルギー代謝に与える影響の解明、第55回日本糖尿病学会年次学術集会、2012年5月17-19日、横浜

4. 突田壮平、山田哲也、宇野健司、高橋圭、

浅井洋一郎、白井勇太、宗像佑一郎、金子慶三、澤田正二郎、長谷川豊、今井淳太、石垣泰、岡芳知、片桐秀樹、褐色脂肪組織における熱産生調節につながる組織間ネットワーク、第55回日本糖尿病学会年次学術集会、2012年5月17-19日、横浜

5. 高橋圭、山田哲也、突田壮平、白井勇太、宗像祐一郎、金子慶三、宇野健司、澤田正二郎、長谷川豊、今井淳太、石垣泰、岡芳知、片桐秀樹、慢性ストレスは肝臓の時計・代謝関連遺伝子の日内発現様式を変調させる、第55回日本糖尿病学会年次学術集会、2012年5月17-19日、横浜

6. 浅井洋一郎、宇野健司、田中満実子、宗像佑一郎、高橋圭、今井淳太、山田哲也、石垣泰、岡芳知、片桐秀樹、非侵襲的陽圧換気療法の使用により著明な体重減少を呈した肥満低換気症候群の一例、第30回日本肥満症治療学会学術集会、2012年6月29日、東京

7. 高俊弘、石垣泰、澤田正二郎、近藤敬一、井泉知仁、宇野健司、長谷川豊、山口賢、金子慶三、突田壮平、高橋圭、今井淳太、山田哲也、石原寿光、岡芳知、片桐秀樹、動脈硬化発症・進展におけるWFS1の役割の検討、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

8. 突田壮平、山田哲也、宇野健司、高橋圭、白井勇太、宗像佑一郎、金子慶三、澤田正二郎、長谷川豊、今井淳太、石垣泰、岡芳知、片桐秀樹、褐色脂肪組織における熱産生抑制につながる組織間ネットワーク、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

9. 山本淳平、石垣泰、金子慶三、長谷川豊、山口賢、宇野健司、澤田正二郎、今井淳太、山田哲也、岡芳知、片桐秀樹、エゼチミブの肝機能改善効果の検討、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

〔図書〕(計4件)

1. 宇野健司・片桐秀樹、中外医学社、Annual Review 循環器 2013「肥満と高血圧の発症の共通基盤」、2013、177-185 ページ
2. 宇野健司・片桐秀樹、日本医事新報社、「肥満における高血圧発症の新しいメカニズム」、2012、76-80 ページ
3. 宇野健司・片桐秀樹、医学書院、呼吸と循環「各臓器間を介した自律神経ネットワーク—循環器疾患における役割」、2012、283-290 ページ
4. 宇野健司・片桐秀樹、中外医学社、Annual Review 糖尿病・代謝・内分泌 2012「臓器間エネルギー調節機構—メタボリックシンドローム形成における新たな役割—」、2012、38-46 ページ

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宇野 健司 (UNO KENJI)
東北大学・病院・助教
研究者番号：50596632

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者