

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591318

研究課題名(和文) 脂肪組織の肥大化と糖エネルギー代謝異常におけるPDGFシグナルの意義の解明

研究課題名(英文) Enhanced PDGF signaling contributes adipose tissue angiogenesis, expansion, and systemic glucose intolerance in obesity.

研究代表者

和田 努 (Wada, Tsutomu)

富山大学・大学院医学薬学研究部 (薬学)・講師

研究者番号：00419334

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：肥満に伴う脂肪組織の肥大化には、組織を支持する血管新生が必要である。肥満マウスの脂肪組織では血管新生因子PDGFBとその受容体PDGFRbの発現が亢進する。本研究ではPDGFRb欠損マウスおよび中枢神経特異的PDGFRb欠損マウスを作製し、高脂肪食負荷の影響を検討した。その結果、PDGFシグナルは肥満に伴う脂肪組織の血管新生に重要であり、その阻害はエネルギー消費を亢進させ、肥満抵抗性を示した。その機序として、視床下部ニューロンへのPDGFの直接作用ではなく、脂肪組織へ脂肪蓄積が出来ない事に対する代償機構が存在することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Adipose tissues expand with neovessel formations. We found that the angiogenic factor platelet derived growth factor (PDGF) and its receptor (PDGFRb) are highly increased in the adipose tissue when mice were fed on high-fat diet (HFD). In the present study, we examined the impact of PDGF signaling on adipose tissue hypertrophy and metabolic phenotype in obesity by using systemic or central nerve specific PDGFRb knockout mice. We found that PDGF signal was important for adipose tissue angiogenesis in obesity, and the inhibition of angiogenesis augmented energy expenditure and obese-resistant phenotype in mice. As the underlying mechanism, the compensation for insufficient lipid storage in the adipose tissue appears to be involved in the obesity-resistant phenotype, rather than the lack of direct action of PDGF in the hypothalamic neurons.

研究分野：糖尿病学

キーワード：血管新生 脂肪組織肥大化 慢性炎症 エネルギー消費

## 1. 研究開始当初の背景

肥満に伴うインスリン抵抗性は、メタボリックシンドロームや2型糖尿病の病態基盤であり、肥満の克服は合併症予防や生命予後の観点から重要な命題である。摂取カロリーの増加に伴う体脂肪量の変化には個人差や人種差が認められるが、従来これらは主として膵臓からのインスリン分泌能の差異に起因すると考えられてきた。しかし、近年脂肪組織の肥大化には、脂肪組織を支持する**血管の新生能**も脂肪組織量を規定する因子として重要であることが示された (Nat Med 10: 625, 2004)。肥大化する脂肪組織では局所的な低酸素状態に陥り、Hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  (HIF1 $\alpha$ ) などの転写因子発現を介して血管新生が促進される。これらの血管新生に関わる因子として、VEGF(**血管内皮細胞増殖因子**)が中心的役割を果たすことが報告され、興味深いことに VEGF シグナルの阻害はマウスの**摂食量やエネルギー消費量にも影響**することが示されている (PNAS 99: 10730, 2002)。

PDGF は PDGF/VEGF ファミリーに属する増殖因子であり、主に間葉系細胞の遊走や増殖を調節し、胎生期の成長や血管新生、創傷治癒における**血管新生に関与**するとともに、**脂肪細胞の分化・成熟にも関わる**。肥満における脂肪組織の肥大化に伴う**慢性炎症の進展**はインスリン抵抗性の病態基盤に深く関与する。しかし、PDGF とその受容体の欠損マウスは**胎生致死**のため、体脂肪増加や脂肪組織の血管新生における PDGF の機能を *in vivo* で直接検討した報告はなく、**脂肪組織の肥大化に対する関与や意義は全く不明**であった。

## 2. 研究の目的

高脂肪食負荷マウスの血清PDGFR-BBは通常食マウスに比べ、有意な上昇を認めた。また各組織におけるPDGFおよびPDGF $\beta$ の発現レベルの変化を検討したところ、内臓脂肪、皮下脂肪、褐色脂肪組織において著明な発現亢進を認めたが、骨格筋、肝臓、膵臓、視床下部では変化を認めなかった。以上から肥満に伴う脂肪組織で発現が増加するPDGFシグナルの意義を検討することを本研究の目的とした。

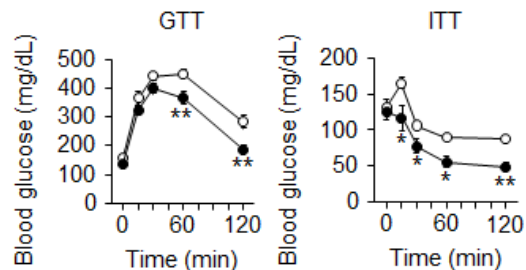
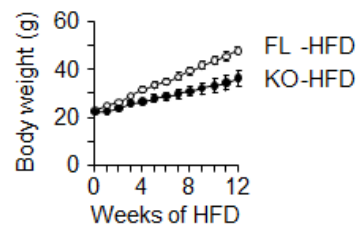
## 3. 研究の方法

PDGF および PDGFR の KO マウスは胎生致死であるため、マウスが生育後にタモキシフェン投与により PDGFR $\beta$ 欠損を誘導できる**コンディショナルノックアウトマウス (KO)**を用い解析を行った。また視床下部ニューロンを含む中枢神経系への PDGF 作用がエネルギー消費に及ぼす影響を検討する目的で、**中枢神経特異的 PDGFR $\beta$ 欠損マウス (CKO)**を作製し、検討に用いた。

## 4. 研究成果

KOは高脂肪食負荷に対し、肥満抵抗性を示した(図)。この体重増加抑制効果は、内臓脂肪と皮下脂肪の増加抑制に起因し、脂肪細胞サイズも抑制されていた。またKOでは肝臓への脂肪蓄積も抑制されていた。これらの結果、高脂肪食負荷で認められる耐糖能障害とインスリン抵抗性の悪化は、対照マウスと比較しKOで改善を認めた(図)。KOが肥満抵抗性を示す機序として、エネルギー代謝を検討したところ、KOの摂食量はむしろ増加していたが、自発運動量とエネルギー消費量が亢進していた。これに一致して褐色脂肪組織のUCP 1, PRDM16等の遺伝子発現も増加を認めた。

高脂肪食負荷における体重推移



視床下部はエネルギー代謝の中枢であり、視床下部ニューロンに対するPDGF作用の欠陥がエネルギー消費の亢進に関与する可能性を考えた。そこで新たにCre-LoxPシステムにより、視床下部を含む中枢神経細胞で特異的にPDGFR $\beta$ を欠損するマウス(CKO)を作製し、そのエネルギー代謝表現型を解析した。その結果、CKOマウスは高脂肪食負荷に対し、肥満抵抗性を示さず、エネルギー消費量もコントロールマウスと同等であった。その結果CKOの糖代謝は、高脂肪食負荷に伴いコントロールと同程度に悪化した。以上より、中枢神経ニューロンに対する直接的なPDGF作用の欠陥はKOのエネルギー代謝亢進の原因ではないことが明らかとなった。

さらに内臓脂肪組織の肥大化に伴う血管新生に関し、検討を行った。その結果KOは通常食下においても脂肪組織の血管が減少しており、高脂肪食下においても同様に血管新生が阻害されていた。この血管新生の低下が脂肪組織の肥大化を抑制し、肥満抵抗性を誘導したと考えられた。

以上、本検討により、肥満状態の脂肪組織で増加するPDGFが、脂肪組織の血管新生を介して更なる脂肪組織の肥大化、これに伴うインスリン抵抗性の増悪に関与することを明らかとした。本検討は肥満、糖尿病病態に

おける PDGF 作用を詳細に検討した初めての研究報告である。

## 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 0 件)

得られた成果を今後 1-2 報の論文にまとめ、発表予定。

[学会発表](計 14 件)

Wada T, Onogi Y, Kamiya C, Inata K, Ishii Y, Sasahara M, Tsuneki H, Sasaoka T. The role of PDGF signaling in the adipose tissue inflammation and glucose metabolism in obese mice. 2015 Keystone Symposia Conference, Diabetes and Metabolic Dysfunction; 2015 Jan 27- Feb 1; Santa Fe.

和田 努, 稲田健人, 小野木康弘, 神谷知江, 石井陽子, 笹原正清, 恒枝宏史, 笹岡利安. 中枢神経系の PDGF シグナルがエネルギー代謝に与える影響. 第 58 回日本糖尿病学会年次学術集会; 2015 May 21-24; 下関.

小野木康弘, 和田 努, 神谷知江, 稲田健人, 山本誠士, 石井陽子, 笹原正清, 恒枝宏史, 笹岡利安. PDGF シグナル遮断がインスリン抵抗性に与える影響の解析. 第 58 回日本糖尿病学会年次学術集会; 2015 May 21-24; 下関.

和田 努, 小野木康弘, 稲田健人, 丸茂勇輝, 石井陽子, 笹原正清, 恒枝宏史, 笹岡利安. PDGF シグナルが肥満に伴う脂肪組織の肥大化と糖代謝におよぼす影響. 第 33 回内分泌代謝学サマーセミナー; 2015 June 9-11; 柳川.

小野木康弘, 和田 努, 神谷知江, 稲田健人, 石井陽子, 笹原正清, 恒枝宏史, 笹岡利安. PDGF 受容体活性阻害による 2 型糖尿病マウスのインスリン感受性改善機構. 第 57 回日本糖尿病学会年次学術集会; 2014 May 22-24; 大阪.

Onogi Y, Wada T, Kamiya C, Inata K, Ishii Y, Sasahara M, Tsuneki H, Sasaoka T. Inhibition of PDGF receptor improves insulin resistance by suppression of chronic inflammation via reduction of MCP1 expression in the adipose tissue of type 2 diabetes mice. American Diabetes Association (ADA) 74th Scientific Sessions; 2014 June 13-17; San Francisco.

小野木康弘, 和田 努, 神谷知江, 稲田健人, 石井陽子, 笹原正清, 恒枝宏史, 笹岡利安. 肥満に伴う耐糖能障害およびインスリン抵抗性進展における PDGF の関与. 第 13 回次世代を担う若手フォーマバイオフォーラム 2014; 2014 Sep 20-21; 富山.

Wada T. Blockade of PDGF receptors ameliorates adipocyte dysfunctions and improves glucose metabolisms in diabetic db/db mice. The 13th Japan-Korea Diabetic Nephropathy Seminar; 2014 Sep 25-28; Kanazawa.

神谷知江, 和田 努, 小野木康弘, 稲田健人, 山本誠士, 石井陽子, 笹原正清, 恒枝宏史, 笹岡利安. 肥満に伴う脂肪組織の慢性炎症と糖代謝に対する PDGF シグナルの関与の検討. 第 14 回日本内分泌学会北陸支部学術集会; 2014 Nov 9; 金沢.

小野木康弘, 和田 努, 神谷知江, 稲田健人, 山本誠士, 石井陽子, 恒枝宏史, 笹原正清, 笹岡利安. PDGF を介した脂肪組織肥大化およびインスリン抵抗性進展機構の解明. 日本薬学会北陸支部第 126 回例会; 2014 Nov 16; 金沢.

稲田健人, 和田 努, 小野木康弘, 神谷知江, 恒枝宏史, 石井陽子, 笹原正清, 笹岡利安. 脳神経特異的 PDGF シグナル遮断による肥満および糖脂質代謝への影響の解明. 日本薬学会北陸支部第 126 回例会; 2014 Nov 16; 金沢.

小野木康弘, 和田 努, 神谷知江, 石井陽子, 笹原正清, 恒枝宏史, 笹岡利安. 糖代謝に対する PDGF シグナルの関与の解析. 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会; 2013 May 16-18; 熊本.

和田 努, 小野木康弘, 神谷知江. 血管新生を標的とした新たな肥満・糖代謝障害に対する治療法の開発. 富山大学コラボフェスタ 2013; 2013 Sep 12; 富山.

和田 努. 血管新生を標的とした新たな肥満・糖代謝障害に対する治療法の開発. 富山産学官筋交流会 2013; 2013 Dec 3; 富山.

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

和田 努 (WADA, Tsutomu)  
富山大学・医学薬学研究部・講師  
研究者番号: 00419334

様式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

(2)研究分担者

笹岡 利安 (Sasaoka, Toshiyasu)  
富山大学・医学薬学研究部・教授  
研究者番号： 00272906

(3)連携研究者

笹原 正清 (SASAHARA, Masakiyo)  
富山大学・医学薬学研究部・教授  
研究者番号： 20154015

石井 陽子 (Ishii, Yoko)  
富山大学・医学薬学研究部・準教授  
研究者番号： 00361949

(4)研究協力者

小野木 康弘  
神谷 知江  
稲田 健人