

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 4 月 23 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591351

研究課題名(和文)肥満脂肪組織におけるメタボリックマップの構築～尿酸代謝と脂肪細胞機能異常～

研究課題名(英文)Uric acid metabolism and adipocyte dysfunction in obese adipose tissue

研究代表者

西澤 均(Nishizawa, Hitoshi)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：20379259

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：我々はヒト高尿酸血症が内臓脂肪蓄積と強く関連していることを報告してきたが、本研究ではマウスモデルを用いて脂肪組織の意義について検討した。マウス肥満脂肪組織では尿酸産生酵素XORの活性が亢進していた。またマウス脂肪細胞から尿酸が産生・分泌されることを初めて見出し、肥満脂肪組織で尿酸産生・分泌亢進することを論文報告した。またアミノ酸含め、多くの代謝物が肥満脂肪組織で変動していることを見出し、脂肪細胞機能異常と関わっている可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Obesity is often accompanied by hyperuricemia. However, purine metabolism in various tissues, especially regarding uric acid production, has not been elucidated. Here we report, using mouse models, that adipose tissue could produce and secrete uric acid through xanthine oxidoreductase (XOR) and that the production was enhanced in obesity. Adipose tissue was one of major organs that had abundant activities of XOR, and obese adipose tissues had higher XOR activities. Cultured adipocytes produced and secreted uric acid into culture medium. Uric acid secretion from whole adipose tissue was increased in obese mice. Our results suggest that purine catabolism in adipose tissue could be enhanced in obesity. Furthermore, we found that content of various metabolites including amino acids changed specifically in obese adipose tissue. Possibly, metabolic dysfunction may be associated with endocrine dysfunction (dysregulation of adipocytokines) in obese adipose tissue such as hypoadiponesthinemia.

研究分野：医歯薬学

キーワード：プリン代謝異常

1. 研究開始当初の背景

当教室では、いわゆるマルチプルリスクファクター症候群の中で、食生活の偏り、運動不足を背景とした内臓脂肪蓄積による一連の病態(メタボリックシンドローム)が動脈硬化性疾患の予防を考える上で重要であることを臨床および基礎研究にて示してきた。肥満脂肪組織では、アディポネクチン産生・分泌低下をはじめとするアディポサイトカイン産生異常が惹起される。また、活発に脂肪合成・脂肪分解が起こり、その結果生じる脂肪酸・グリセロールが肝臓でのリポ蛋白合成亢進、糖新生亢進に繋がると考えられている。高尿酸血症は、メタボリックシンドロームの周辺疾患として捉えられており、当教室では臨床研究により内臓脂肪蓄積と強く関連することを示してきたが、その機序については十分に明らかではなかった。また肥満脂肪組織でのプリン代謝やアミノ酸代謝を含めた代謝異常全般についてはほとんど不明である。

2. 研究の目的

我々は、肥満に伴う尿酸産生亢進の責任臓器は脂肪組織そのものではないかという仮説を立て、ヒポキサンチンから尿酸を生成する酵素であるキサンチンオキシドレダクターゼ(XOR)に着目して、マウスモデルを用いて、検証することを第1の目的とした。またプリン・尿酸代謝のみでなく、代謝異常全般について明らかにすることを第2の目的とした(メタボリックマップの構築)。さらに、これら代謝異常とアディポネクチン低下をはじめとするアディポサイトカイン産生異常(脂肪細胞機能異常)との関わりを明らかにすることを第3の目的とした。

3. 研究の方法

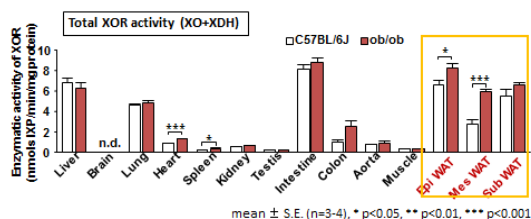
肥満モデルとして ob/ob マウス、高脂肪高シヨ糖食負荷マウス、対照として C57/BL6J(C57)を用いた。培養脂肪細胞は、マウス 3T3-L1 細胞株、もしくは C57 の皮下脂肪から採取した前駆脂肪細胞を用い、分化誘導 8 日目を成熟脂肪細胞とした。脂肪組織の細胞分画はコラゲナーゼを用いる方法にて行った。XOR の遺伝子発現はリアルタイム PCR 法にて、酵素活性はプテリンとメチレンブルーを用いた蛍光アッセイ法でそれぞれ測定した。各種試料中の尿酸は HPLC 法にて定量した。マウスの脂肪組織中や血液中の尿酸濃度の経時変化は、マイクロダイアリシス法を用いて解析した。また血中および組織内の代謝物の網羅的解析には、メタボローム解析技術を用いた。

4. 研究成果

- (1) 肥満モデルマウスでは、血清尿酸値が高値であり、XOR 阻害剤投与で低下すること、
 - (2) 脂肪組織が非常に高い XOR 活性を有し、そして肥満に伴いその活性がさらに亢進すること(図1)
 - (3) 成熟脂肪細胞が尿酸を産生・分泌すること(図2)
 - (4) 脂肪組織を実験的に虚血状態にしたときに脂肪組織局所での尿酸分泌が亢進し、それは血中濃度に影響しうるポテンシャルがあること
 - (5) 器官培養実験で、肥満モデルマウス由来の脂肪組織が対象マウスの脂肪組織より高い尿酸分泌能を有すること(図2)
 - (6) 低酸素状態により、脂肪細胞よりの尿酸分泌が亢進すること、
- を明らかにした(発表論文、学会発表 -)

(図 1)

**XOR 酵素活性は脂肪組織で高く、
肥満モデルマウスで亢進する**

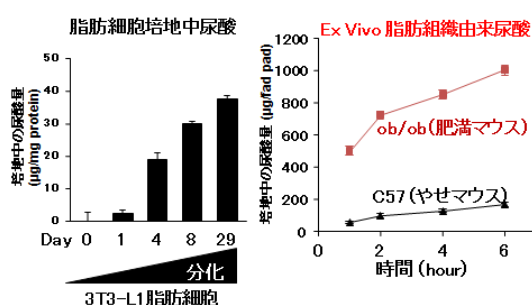


Epi: Epididymal, Mes: Mesenteric, Sub: Subcutaneous, WAT: white adipose tissue
XO: Xanthine oxidase, XDH: Xanthine dehydrogenase

Tsushima Y, Nishizawa H et al. *J. Biol. Chem.* 2013

(図 2)

マウス脂肪組織は尿酸を産生・分泌し、肥満でさらに亢進する。



Tsushima Y, Nishizawa H et al. *J. Biol. Chem.* 2013

上記の研究成果は、肥満時の高尿酸血症に対して、直接脂肪組織が関与する可能性をマウスモデルで示したものである。最終年度は、本研究で得られた上記知見をヒトで検証するため、肥満外科手術例、肥満および普通体重者に対する腹部手術例由来の内蔵脂肪および皮下脂肪の検体採取につき、当院倫理審査委員会で承認を得、検体採取および、パイロットスタディを開始し、ヒト脂肪組織器官培養由来の培養液からプリン代謝物が検出されることを確認した。今後症例数を積み重ね再現性含め検証予定である。

また、上記研究は、肥満脂肪組織でプリン代謝が亢進していることを示すもので、これまで脂肪細胞でされてきた糖・脂質代謝よりもっと広く肥満脂肪組織では代謝異常が惹起されている可能性が考えられる。そこで網羅的に代謝物含量の肥満脂肪組織での変動をメタボローム解析により検討した

ところ、TCAサイクル周辺の代謝物やグルタミン酸をはじめ各種アミノ酸含量が大きく変動していることを見出した(学会発表)。これらのアミノ酸を脂肪細胞に添加するとアディポネクチンの分泌に影響を与えることがわかり現在検証中である。

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13件)

Fukuda S, Hirata A, Nishizawa H (Corresponding author), Nagao H, Kashine S, Kimura T, Inoue K, Fujishima Y, Yamaoka M, Kozawa J, Kitamura T, Yasuda T, Maeda N, Imagawa A, Funahashi T, Shimomura I. Systemic arteriosclerosis and eating behavior in Japanese type 2 diabetic patients with visceral fat accumulation. *Cardiovasc Diabetol.* 2015 Jan 16;14(1):8. (査読有) doi: 未

Matsuda K, Fujishima Y, Maeda N, Mori T, Hirata A, Sekimoto R, Tsushima Y, Masuda S, Yamaoka M, Inoue K, Nishizawa H, Kita S, Ranscht B, Funahashi T, Shimomura I. Positive feedback regulation between adiponectin and T-cadherin impacts adiponectin levels in tissue and plasma of male mice. *Endocrinology.* 2015 Mar;156(3):934-46. (査読有) doi: 10.1210/en.2014-1618.

Fujishima Y, Maeda N, Matsuda K, Komura N, Hirata A, Mori T, Sekimoto R, Tsushima Y, Nishizawa H, Funahashi T, Shimomura I. Effect of adiponectin on cardiac β -catenin signaling pathway under angiotensin II infusion. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014 Feb 7;444(2):224-9. (査読有) doi: 10.1016/j.bbrc.2014.01.043.

Tsushima Y, Nishizawa H (Corresponding

author), Tochino Y, Nakatsuji H, Sekimoto R, Nagao H, Shirakura T, Kato K, Imaizumi K, Takahashi H, Tamura M, Maeda N, Funahashi T, Shimomura I. Uric acid secretion from adipose tissue and its increase in obesity.

J Biol Chem. 2013 Sep 20;288(38):27138-49. (査読有) doi: 10.1074/jbc.M113.485094.

Nagao H, Kashine S, **Nishizawa H (Corresponding author)**, Okada T, Kimura T, Hirata A, Fukuda S, Kozawa J, Maeda N, Kitamura T, Yasuda T, Okita K, Hibuse T, Tsugawa M, Imagawa A, Funahashi T, Shimomura I. Vascular complications and changes in body mass index in Japanese type 2 diabetic patients with abdominal obesity *ardiovasc Diabetol.* 2013 Jun 18;12(1):88.

(査読有)

doi: 10.1186/1475-2840-12-88.

西澤均, 下村伊一郎 X0阻害薬とメタボリックシンドローム 尿酸と血糖(先端医学社)査読無 vol.1 no.1, 18-21, 2015

西澤均 内臓脂肪蓄積と高尿酸血症 メディカル・ビューポイント(医事出版社)査読無 vol 34 no 12, 1, 2013

西澤均, 下村伊一郎 メタボリックシンドロームの概念とその分子病態 最新臨床糖尿病学 上 日本臨牀 第70巻 2012 47-50

西澤均 メタボリックシンドローム・保健指導にまつわるトピック 月刊 糖尿病 医学出版 第4巻 2012 6-12

[学会発表](計16件)

長尾博文、西澤均 肥満脂肪組織におけるアミノ酸の変化

第58回日本糖尿病学会年次学術集会

2015年5月22日 下関

西澤均 アディポサイトカイン異常としての高尿酸血症

第57回日本糖尿病学会年次学術集会(招待講演)2014年5月23日 大阪

西澤均、船橋徹(14員中13番目)など マウス肥満脂肪組織における XOR 活性と尿酸代謝異常 第87回日本内分泌学会学術総会 2014年4月25日 福岡

西澤均 内臓脂肪

第87回日本内分泌学会学術総会(招待講演)2014年4月25日 福岡

對馬佑、西澤均、船橋徹(14員中13番目)など 肥満脂肪組織における XOR 活性と尿酸産生

第34回日本肥満学会年次学術集会 2013年10月12日 東京国際フォーラム(東京都)

西澤均 脂肪組織における尿酸代謝の意義

第47回日本痛風・核酸代謝学会総会(招待講演)2014年2月20日 神戸国際会議場(兵庫県)

西澤均 肥満脂肪組織と尿酸代謝異常 日本肥満学会 第18回アディポサイエンス・シンポジウム(招待講演)2013年08月24日 千里ライフセンター(大阪府) 對馬佑、西澤均など 脂肪組織における XOR活性の測定と肥満に伴う上昇

第46回日本痛風・核酸代謝学会総会 2013年02月15日 京王プラザホテル(東京都)

[図書](計2件)

西澤均 メディカルレビュー社 診療ガイドラインUP-TO-DATE 2014-2015 肥満症 発行年2014 359-364頁

西澤均、船橋徹 メディカルレビュー社 ここまで明らかになった!尿酸代謝ワールドと高尿酸血症の病態解明~診療と医学の最前線~Chapter 5 Practice 種々の疾患リスクとしての高尿酸血症2. 肥満と尿酸代謝の関わり 1) 肥満症・

メタボリックシンドローム 発行年

2015 総 6 ページ(予定)

〔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

西澤 均 (Nishizawa Hitoshi)

大阪大学大学院 医学(系)研究科 助教

研究者番号: 20379259

(2)研究分担者

船橋 徹 (Funahashi Tohru)

大阪大学大学院 医学(系)研究科 寄附講

座教授

研究者番号: 60243234

(3)連携研究者

なし