

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 21 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790738

研究課題名(和文) 摂食調節における転写因子 KLF5 の機能解析

研究課題名(英文) Transcription factor KLF5 in the regulation of appetite control

研究代表者

小島 敏弥 (KOJIMA, Toshiya)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30625588

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000 円、(間接経費) 960,000 円

研究成果の概要(和文)：肥満の機序として摂食調節のメカニズムが重要である。摂食中枢である視床下部弓状核で摂食亢進に作用する Agouti-related peptide (AgRP) 神経において、転写因子 Kruppel-like factor 5 (KLF5) は Forkhead protein FoxO1 を阻害することにより抑制的に作用する。その機序として、KLF5 の SUMO 化が AgRP の抑制に必須であると考えられた。また、AgRP 特異的 Klf5 ノックアウトマウスの解析により、KLF5 が摂食抑制に作用すること、それにより肥満に寄与することが明らかとなった。KLF5 は摂食を調節し代謝制御に多面的に寄与する。

研究成果の概要(英文)：It is vital to elucidate the molecular mechanisms underlying obesity. The arcuate nucleus in the hypothalamus integrates control appetite. It contains neurons expressing Agouti-related peptide (AgRP) that promote food intake. Kruppel-like factor 5 (KLF5) and Agouti-related peptide (AgRP) are co-existing in the arcuate nucleus of the hypothalamus. KLF5 inhibits FoxO1 function which activates AgRP promoter. Moreover, the SUMOylation of KLF5 is essential for its inhibition of AgRP by suppressing FoxO1. The phenotype of AgRP neuron-specific Klf5 deletion mice indicates that AgRP neuron-specific Klf5 deletion mice have more body weight gain, because of more food intake. Our results suggest a model, in which KLF5 suppress activation of AgRP neurons by counteracting with FoxO1 in the hypothalamus, thereby inhibiting food intake. KLF5 appears to be important for both central and peripheral control of energy metabolism.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科

キーワード：転写因子 KLF5 摂食調節 AgRP メタボリックシンドローム

1. 研究開始当初の背景

過食と運動不足を背景としてわが国でも、特に男性で肥満は増え続けている。平成 21 年の国民健康栄養調査によると BMI 25 の肥満者は男性 28.6%、女性 20.6%である。肥満はメタボリックシンドロームに代表されるように、複数の臓器機能障害を引き起こし、動脈硬化性疾患、心不全を始めとする心血管疾患の重要なリスクとなる。肥満の分子機序を明らかにし、有効な予防・治療法を打ち立てることは喫緊の課題である。特に過食のメカニズムを理解することは、肥満の根本的な治療法を開発するために必須である。

2. 研究の目的

摂食は、膵臓からのインスリン、脂肪組織からのレプチンなど、末梢代謝の情報を統合する摂食中枢によって制御される。特に視床下部弓状核に主要な摂食中枢が存在し、Agouti-related protein (AgRP)を発現して摂食を促進する AgRP ニューロンや Pro-opiomelanocortin (POMC)を発現して摂食を抑制する POMC ニューロンが挙げられる。これらのニューロンが受容するシグナルについては近年研究が進んだが、転写制御機構についてはよく分かっていない。我々はこれまで転写因子 KLF5 が動脈硬化、心肥大、線維化を含む心血管疾患の病態に関与していること、さらには脂肪細胞分化、骨格筋における脂肪の燃焼に関与していることを報告してきた。KLF5 ヘテロノックアウトマウスでは体重減少が見られる一方で摂食量増加がみられた。転写因子 KLF5 が摂食調節においても何らかの役割を果たしているという仮説を立て、本研究では転写因子 KLF5 による視床下部弓状核 AgRP ニューロンの機能制御機構を検討し、末梢からの情報に応じた摂食調節の分子機序を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

培養ニューロンを用いた KLF5 転写ネットワークの解析、AgRP ニューロン特異的 KLF5 ノックアウトマウスを用いた摂食行動における KLF5 機能の *in vivo* 解析を進めた。また、AgRP の発現、調節に forkhead box-containing protein of the O subfamily (FoxO)-1 が関与していることが知られているが、Agrp プロモーターにおける KLF5 と FoxO1 の結合部位は隣接していることに着目し、KLF5 と FoxO1 の相互作用に着目して、転写ネットワークを解明するとともに、AgRP ニューロンが KLF5 の SUMO 化を介して末梢からのシグナルに応答するというモデルを検証した。

4. 研究成果

(1) 免疫組織化学において、KLF5 は視床下部弓状核に局在して発現しており、特に

AgRP ニューロンに発現が見られた。培養ニューロンにおいて KLF5 が AgRP の発現を抑制しており、摂食を負に調節すると考えられた。

(2) Agrp プロモーター領域において、KLF5 結合部位の存在が示唆された。Agrp プロモーターにおける KLF5 結合領域の部位特異的変異導入により KLF5 による Agrp プロモーターの抑制がみられなくなった。これは KLF5 が Agrp の抑制に必須であることを示唆するものである。

(3) クロマチン免疫沈降により KLF5 が Agrp プロモーター領域に直接的に作用すること、更には低グルコース刺激により結合が外れるという知見を得た。

(4) forkhead box-containing protein of the O subfamily (FoxO)-1 は PI3K 依存性の代謝や細胞分化を調節していると共に AgRP を誘導するが、ルシフェラーゼアッセイにおいて KLF5 と FoxO1 の相互作用を示唆する知見を得た。FoxO1 は AgRP に対して促進的に作用し、KLF5 はそれに対して抑制的に作用していた。KLF5 は高グルコース状態では FoxO1 と結合しているが、低グルコース状態では FoxO1 と解離していた。

(5) AgRP の調節には FoxO1 のリン酸化が関与することが知られている。FoxO1 はリン酸化により核外に移行し、非活性化する。培養ニューロンにおける、Klf5 のノックダウンにより FoxO1 のリン酸化が減少した。KLF5 が FoxO1 のリン酸化に関与し、AgRP を抑制していることが示唆された。

(6) 翻訳後修飾である SUMO 化により多くの転写が抑制されていることが知られている。KLF5 の SUMO 化との関連について検討した。非 SUMO 化 KLF5 は FoxO1 により活性化した Agrp プロモーターを抑制せず、SUMO 特異的プロテアーゼである SENP1 により Agrp プロモーター活性が上昇した。KLF5 の SUMO 化が Agrp の抑制に必須であると考えられた。

(7) Agrp 特異的 Klf5 ノックアウトマウスを作成した。Agrp 特異的 Klf5 ノックアウトマウスの視床下部では Agrp mRNA 発現が増加していた。しかし、骨格筋において、エネルギー代謝に関わる遺伝子については有意差を認めなかった。また、Agrp 特異的 Klf5 ノックアウトマウスの表現型として摂食量、体重共に増加していた(図 1、図 2)が、pair-feeding によりコントロール群と同量の摂食量としたところ、体重に有意差を認めなかった。さらに Klf5 ノックアウトにより体重増加を来したマウスは control に比し、耐糖能異常、インスリン抵抗性を来した。これらは Agrp において KLF5 が抑制的に作用し、メタボリックシンドロームに寄与していることを示唆する。

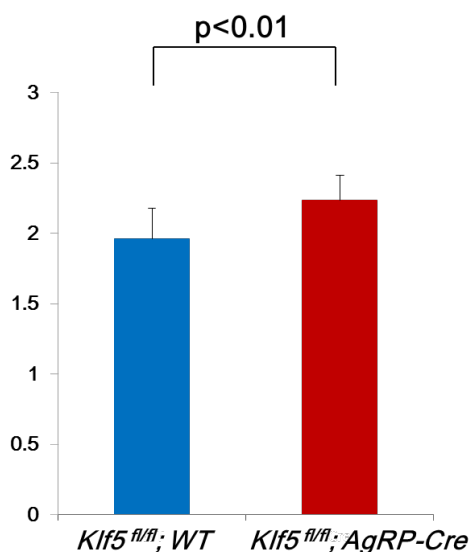


図 1. *AgRP* 特異的 *Klf5* ノックアウトマウスとコントロール群における摂餌量の比較

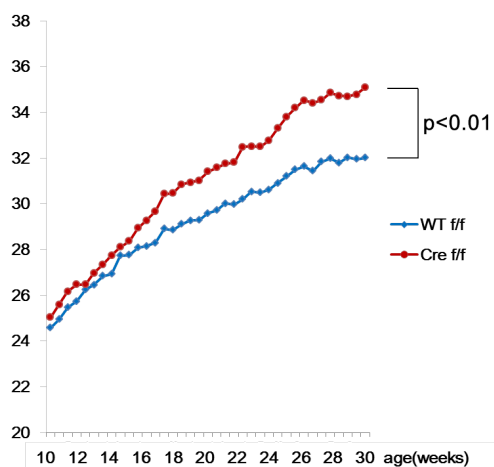


図 2. *AgRP* 特異的 *Klf5* ノックアウトマウスとコントロール群における体重の比較

(8) 以上より、KLF5 は、脂肪細胞分化、脂肪酸燃焼に加えて、摂食を調節し代謝制御に多面的に寄与することが明らかとなった。

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 0 件)

[学会発表](計 10 件)

Toshiya Kojima

FASEB, Science Research Conference, Biology and Pathobiology of Kruppel-like factors (KLFs), Snowmass, Colorado, US

「KLF5 controls food intake by regulating AgRP expression in hypothalamic neurons」

2012/8/5 ~ 8/10

小島 敏弥

第 33 回 日本肥満学会学術集会, 京都

「転写因子 KLF5 は AgRP を抑制し摂食を調節する」

2012/10/11

小島 敏弥

第 16 回 日本心血管内分泌代謝学会, 東京

「転写因子 KLF5 は AgRP を抑制し摂食を調節する」

2012/11/23

Toshiya Kojima

第 77 回 日本循環器学会学術集会, 横浜

「SUMOylation of Kruppel-like factor 5 controls food intake by suppressing AgRP expression on contact with FoxO1 in hypothalamic neurons」

2012/3/16

Toshiya Kojima

KEYSTONE SYMPOSIA, 「Neuronal Control of Appetite, Metabolism and Weight(C6)」, Banff, Alberta, Canada

「SUMOylation of Kruppel-like factor 5 controls food intake by suppressing AgRP expression on contact with FoxO1 in hypothalamic neurons」

2013/3/19

Toshiya Kojima

Abcam Conference 「Programming Obesity: Central and Peripheral Contributor」, Fitzwilliam College, University of Cambridge, Cambridge, UK

「SUMOylation of Kruppel-like factor 5 controls food intake by suppressing AgRP expression on contact with FoxO1 in hypothalamic neurons」

2013/4/15

Toshiya Kojima

ESC Congress 2013, Amsterdam, Netherland

「SUMOylation of Kruppel-like factor 5 controls food intake by suppressing AgRP expression on contact with FoxO1 in hypothalamic neurons」

2013/9/1

小島 敏弥

第 34 回 日本肥満学会学術集会, 東京

「転写因子 KLF5 は FoxO1 による AgRP 活性を抑制し摂食を調節する」

2013/10/12

小島 敏弥

第 17 回 日本心血管内分泌代謝学会, 豊中

「転写因子 KLF5 は FoxO1 による AgRP 活性を抑制し摂食を調節する」

2013/11/22

Toshiya Kojima

KEYSTONE SYMPOSIA, Obesity: A Multisystems Perspective, Vancouver, British Columbia, Canada

「SUMOylation of Kruppel-like factor 5 controls food intake by suppressing AgRP expression on contact with FoxO1 in hypothalamic neurons」

2014/1/14

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

小島 敏弥 (KOJIMA, Toshiya)
東京大学医学部附属病院・循環器内科・
助教
研究者番号：30625588

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：