

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25253067

研究課題名(和文) 外部環境に対応する臓器間代謝情報ネットワークメカニズムの解明

研究課題名(英文) Inter-organ communication via the neuronal system in response to external environment

研究代表者

片桐 秀樹 (Katagiri, Hideki)

東北大学・医学系研究科・教授

研究者番号：00344664

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,200,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトを初めとする多臓器生物では、臓器間の代謝情報のやり取りが欠かせない。本研究では、栄養素摂取変動などの実際の外部環境の変化で、どのような臓器間ネットワークがどのように働いているのかを検討し、恒常性維持にむけての外部環境に応答する個体レベルでの対応システムおよび病態発症との関連について検討した。

その結果、アミノ酸過剰状態となると、臓器間神経ネットワークを介して、高中性脂肪血症をきたすこと、さらに、脂肪肝状況では胆石ができやすいが、その機序は肝での低酸素応答を介すること、さらに、脂肪酸によるインスリン分泌亢進機序を解明した。種々の臓器連関が明らかとなり、肥満関連病態の発症機序が解明された。

研究成果の概要(英文)：In multi-organ creatures, including human beings, inter-organ metabolic communication is essential to regulate systemic metabolism. We examined how the inter-organ communication functions in response to alterations in external environment.

Thereafter, we elucidated that 1) increased amino acid intake induces hypertriglyceridemia via a neuronal relay system, 2) hypoxic responses in steatotic liver are involved in gallstone formation, and 3) fatty acids promote glucose-stimulated insulin secretion via a newly-identified receptor family. Thus, a variety of inter-organ systems for metabolic homeostasis are ironically involved in obesity-related disorders.

研究分野：糖尿病学

キーワード：臓器連関 神経ネットワーク 糖代謝 糖尿病 肥満

1. 研究開始当初の背景

ヒトを初めとする多臓器生物では、血糖値や体重は、一つの臓器だけで決まるものではなく、個体全身の臓器が最適な状況を作るよう連携するシステムが必要であり、そのためには、臓器間の代謝情報のやり取りが欠かせない。研究代表者の片桐らは、インスリンやアディポカインなどの液性因子に加え、自律神経を中心とした神経ネットワークがこの臓器間の代謝情報のやり取りに重要な役割を果たしていることを明らかとした。具体的には、1) 脂肪組織でのエネルギー代謝亢進 (UCP1 発現) による視床下部でのレプチン抵抗性の改善・過食の抑制 (Cell Metab 2006) 2) 肝での脂肪蓄積促進 (PPAR 発現) による基礎代謝亢進 (Science 2006) 3) 肝での ERK 経路活性化による膵 細胞選択的増殖・インスリン分泌亢進 (Science 2008) 4) 肝での糖代謝亢進 (グルコキナーゼ発現) による褐色脂肪組織での熱産低下・肥満の助長 (Cell Metab 2012) といった臓器間連携システムを次々と発見し、求心性神経を含む神経シグナルが、臓器間の情報連絡システムであることを証明した。2) はエネルギー蓄積時のエネルギー消費亢進、3) は肥満 (インスリン抵抗性) 時のインスリン分泌亢進であり、それぞれフィードバック機能を果たし、エネルギー代謝・糖代謝の個体レベルでのダイナミックな恒常性維持機構と想定される。また、4) については、個体レベルでの儉約システムとして働き、このシステムの活動性の違いが、マウスの系統間の太りやすさの違いにつながることも明らかとした。これらをもとに、個体レベルでの糖代謝・エネルギー代謝は、インスリンなどの液性因子によるシグナルと神経シグナルとが協調して、制御しているという概念を提唱するにいたった (Circ Res 2007)。液性因子は、血流中に放出されほとんどの臓器にほぼ同時に到達するのに対し、末梢臓器からの神経シグナルは、求心性神経によりまず脳に伝えられ、脳で情報が受容・統御されたのち、遠心性神経により目的の臓器に伝達される。このことから、液性因子は gross の調節、神経シグナルは fine tuning に役立っているものと想定された。しかし、この時点では、臓器間の代謝情報をやり取りする導線となる経路がいくつか発見できたに過ぎなかった。

2. 研究の目的

そこで本研究では、栄養素摂取変動などの実際の外部環境の変化で、個体の代謝状況が変化するメカニズムとして、どのような臓器間ネットワークがどのように働いているのかを詳細に検討し、恒常性維持にむけて外部環境に应答する個体レベルでの対応システムを解明するとともに、病態発症との関連を明らかとする。これらの検討から、環境に应答し個体レベルで代謝を調節する多臓器生物の複雑な仕組みを解き明かすことを目的と

する。この目的に従い、種々の検討を進めたが、最終的に 1) 摂取栄養素による臓器間ネットワーク解析 2) 食餌性物質による糖応答性インスリン分泌亢進 3) 脂肪肝における低酸素応答の 3 課題について後述するような成果が得られた。

3. 研究の方法

1) 摂取栄養素による臓器間ネットワーク解析

これまでの研究により、肝での脂肪蓄積や当取り込みを促進した際の臓器間ネットワークを解明した。そこで、今回は、肝でのアミノ酸代謝を促進した際、その栄養素摂取情報がどのように他臓器に伝播されるかについて検討を行った。アミノ酸代謝の律速段階は細胞内にアミノ酸が輸送されるステップであるため、アミノ酸輸送体の一つである SNAT2 を組換えアデノウィルスを用いて肝に発現させ、他臓器や全身の代謝に及ぼす表現型を解析した。

2) 食餌性物質による糖応答性インスリン分泌亢進

脂肪酸の摂取は糖応答性インスリン分泌を更新させることが知られている。そこで、この機序を明らかにするため、膵 細胞のマイクロアレイ解析を行い、脂肪酸を認識できる受容体の発現を検討した。さらに、ノックダウンなどの手法を用いて、遮断実験を行い、受容体以下のシグナルの検討を進めた。

3) 脂肪肝における低酸素応答

脂肪肝になると類洞内の流れが悪くなり、肝静脈域で肝細胞が虚血に陥る。そこで、この際の肝細胞における低酸素応答が肝や肝外の代謝にどのような影響を及ぼすかについて、低酸素応答を司る HIF1 の肝細胞で欠損したマウスを用い、高コレステロール・コル酸食を負荷し、他臓器や全身の代謝に及ぼす表現型を解析した。

4. 研究成果

1) 摂取栄養素による臓器間ネットワーク解析

肝細胞に SNAT2 を発現させ肝へのアミノ酸取り込みを増加させると、高脂肪食負荷後に著明な高中性脂肪血症をきたした。肝細胞における mTOR/S6K 経路を遮断するとこの表現型が抑制されることから、肝細胞内 mTOR/S6K 経路を介した情報伝達が行われているものと考えられた。さらに、迷走神経切断、交感神経遮断薬投与でも同様に抑制され、肝からの迷走神経求心路 中枢神経 - 交感神経遠心路による新たな臓器間神経ネットワークの関与が明らかとなった。

中性脂肪上昇の機序としては、種々の検討の結果、脂肪組織における LPL の発現が低下することで、食餌性の脂肪の血中による加水分解が抑制されていることが解明された。また、

この経路は、肥満の際の高中性脂肪血症の発症にも関与していることが肥満のモデル動物を用いた検討から証明された。

以上より、肝臓でのアミノ酸代謝を引き金とする臓器をまたいだ個体レベルでの脂質代謝調節機構が解明された。この発見は、新たな臓器間代謝情報ネットワークの解明のみならず、全身でのダイナミックなアミノ酸脂質の栄養素間代謝ネットワークを示したもので、栄養学的にも大きな意義を持つものと考えられる。さらに、メタボリックシンドロームの主兆候の一つである高中性脂肪血症の機序が明らかとなったことで、医学的な意味も重要である。本成果は Nature Communications 誌に発表され、マスメディアでも大きく報道された。

2) 食餌性物質による糖応答性インスリン分泌亢進

膵細胞における mRNA のマイクロアレイ解析を進めたところ、これまで膵細胞での発現が報告されていなかった嗅覚受容体ファミリーの発現を認めた。そこで、これらの発現を一細胞レベル、タンパクレベル、免疫染色にて検討した結果、実際にこのファミリー蛋白の発現を明らかとした。このうち、脂肪酸との結合が報告されている受容体をノックダウンすることにより、一部の脂肪酸による糖応答性インスリン分泌の亢進が解除され、この受容体からのシグナルが、糖応答性インスリン分泌亢進に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。さらに、その下流の細胞内シグナルを検討し、IP3 経路の関与を証明した。

膵細胞の糖応答性インスリン分泌の亢進は、糖代謝の恒常性調節に非常に重要であり、また、薬剤開発のターゲットとしても注目されている。今回の成果は、インクレチン作用とは別経路で糖応答性インスリン分泌亢進をもたらすものであり、さらなる分子機構の解明やリガンド探索は、糖代謝の恒常性維持機構の解明のみならず、治療法開発の点からも期待できる。

3) 脂肪肝における低酸素応答

脂肪肝の際、肝細胞では低酸素状況に陥っている。そこで、脂肪肝の際の肝細胞における低酸素応答について、肝細胞特異的誘導性 HIF-1 ノックアウトマウスを用いて検討を進めたところ、この環境応答シグナルが、肝細胞の保護に役立つ一方で、コレステロール胆石形成の原因となっていることを見出した。

まず、肝細胞特異的誘導性 HIF-1 ノックアウトマウスに高コレステロール・コール酸食を負荷したところ、野生型では多くのマウスで胆石を形成した一方で、この KO マウスでは、著明に胆石形成が抑制された。胆汁中の脂質濃度の増加、胆汁流量の減少、胆嚢壁の炎症肥厚が、いずれも抑制され、胆汁量の

増加による胆汁の希釈が胆石形成抑制に重要であると考えられた。その機序として、in vitro の結果も含め、低酸素応答により発現亢進した HIF-1 が肝細胞における胆汁中への水排出を司る AQP8 の発現を抑制しているメカニズムが新規に明らかとなった。つまり、脂肪肝においては、この機序が働き胆汁が濃縮される一方で、肝細胞 HIF-1 欠損により、AQP8 の発現が保たれ、胆石形成が抑制されたことが証明された。

血流の低下は低酸素のみならず水分の灌流不良をもたらす。今回明らかとなった低酸素で応答する HIF-1 発現亢進により、細胞からの水分流出が抑制されるメカニズムは、生理的に理にかなったものと考えられるが、胆石形成という思わぬ副作用を生じていたものと考えられる。本成果は Gastroenterology 誌に発表され、マスメディアでも大きく報道された。

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 17 件)

1. Suzuki T, Gao J, Ishigaki Y, Kondo K, Sawada S, Izumi T, Uno K, Kaneko K, Tsukita S, Takahashi K, Asao A, Ishii N, Imai J, Yamada T, Oyadomari S, Katagiri H. ES Stress Protein CHOP Mediates Insulin Resistance by Modulating Adipose Tissue Macrophage Polarity. Cell Rep. 査読有. 18 巻. 2017. 2045-2057. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.01.076.
2. Asai Y, Yamada T, Tsukita S, Takahashi K, Maekawa M, Honma M, Ikeda M, Murakami K, Munakata Y, Shirai Y, Kodama S, Sugisawa T, Chiba Y, Kondo Y, Kaneko K, Uno K, Sawada S, Imai J, Nakamura Y, Yamaguchi H, Tanaka K, Sasano H, Mano N, Ueno Y, Shimosegawa T, Katagiri H. Activation of Hypoxia Inducible Factor 1 Subunit Pathway in Steatotic Liver Contributes to Formation of Cholesterol Gallstones. Gastroenterology. 査読有. 2017. in press. DOI: 10.1053/j.gastro.2017.01.001.
3. Tsukita S, Yamada T, Takahashi K, Munakata Y, Hosaka S, Takahashi H, Gao J, Shirai Y, Kodama S, Asai Y, Sugisawa T, Chiba Y, Kaneko K, Uno K, Sawada S, Imai J, Katagiri H. MicroRNAs 106b and 222 Improve Hyperglycemia in a Mouse Model of Insulin-Deficient Diabetes via Pancreatic β -Cell Proliferation. EBioMedicine. 査読有. 15 巻. 2017. 163-172. DOI: 10.1016/j.ebiom.2016.

4. Chiba Y, Yamada T, Tsukita S, Takahashi K, Munakata Y, Shirai Y, Kodama S, Asai Y, Sugisawa T, Uno K, Sawada S, Imai J, Nakamura K, Katagiri H. Dapagliflozin, a sodium-glucose co-transporter 2 inhibitor, acutely reduces energy expenditure in BAT via neural signals in mice. *PLoS One*. 査読有. 11 巻. 2016. e0150756. DOI: 10.1371/journal.pone.0150756
5. Sakayori N, Kikkawa T, Tokuda H, Kiryu E, Yoshizaki K, Kawashima H, Yamada T, Arai H, Kang JX, Katagiri H, Shibata H, Innis SM, Arita M, Osumi N. Maternal dietary imbalance between omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids impairs neocortical development via epoxy metabolites. *Stem Cells*. 査読有. 34 巻. 2016. 470-482. DOI: 10.1002/stem.2246
6. Okubo H, Kushiyama A, Sakoda H, Nakatsu Y, Iizuka M, Taki N, Fujishiro M, Fukushima T, Kamata H, Nagamachi A, Inaba T, Nishimura F, Katagiri H, Asahara T, Yoshida Y, Chonan O, Encinas J, Asano T. Involvement of resistin-like molecule in the development of methionine-choline deficient diet-induced non-alcoholic steatohepatitis in mice. *Sci Rep*. 査読有. 28 巻. 2016. 20157. DOI: 10.1038/srep20157
7. Tanaka M, Imai J, Satoh M, Hashimoto T, Izumi T, Sawada S, Uno K, Hasegawa Y, Kaneko K, Yamada T, Ishigaki Y, Imai Y, Katagiri H. Impacts of the Great East Japan earthquake on diabetic patients. *Journal of Diabetes Investigation*. 査読有. 6 巻. 2015. 577-586. DOI: 10.1111/jdi.12336
8. Uno K, Yamada T, Ishigaki Y, Imai J, Hasegawa Y, Sawada S, Kaneko K, Ono H, Asano T, Oka Y & Katagiri H. A hepatic amino acid/mTOR/S6K-dependent signalling pathway modulates systemic lipid metabolism via neuronal signals. *Nature Communications*. *Nature Communications*. 査読有. 6 巻. 2015. 1-15. DOI: 10.1038/ncomms8940
9. Nakatsu Y, Iwashita M, Sakoda H, Ono H, Nagata K, Matsunaga Y, Fukushima T, Fujishiro M, Kushiyama A, Kamata H, Takahashi S, Katagiri H, Honda H, Kiyonari H, Uchida T and Asano T. Prolyl Isomerase Pin1 Negatively Regulates AMPK by Associating with the CBS Domain in the γ -subunit. *J Biol Chem*. 査読有. 290 巻. 2015. 24255-66. DOI: 10.1074/jbc.M115.658559
10. Motomura Y, Kanno S, Asano K, Tanaka M, Hasegawa Y, Katagiri H, Saito T, Hara H, Nishio H, Hara T, Yamasaki S. Identification of pathogenic cardiac CD11c+ macrophages in Nod1-mediated acute coronary arteritis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 査読有. 35 巻. 2015. 1423-33. DOI: 10.1161/ATVBAHA.114.304846
11. Noda K, Nakajima S, Godo S, Saito H, Ikeda S, Shimizu T, Enkhjargal B, Fukumoto Y, Tsukita S, Yamada T, Katagiri H, Shimokawa H. Rho-Kinase Inhibition Ameliorates Metabolic Disorders through Activation of AMPK Pathway in Mice. *PLoS One*. 査読有. 9 巻. 2014. e110446. DOI: 10.1371/journal.pone.0110446
12. Tanaka M, Imai J, Satoh M, Hashimoto T, Izumi T, Sawada S, Uno K, Hasegawa Y, Kaneko K, Yamada T, Ishigaki Y, Imai Y, Katagiri H. Glycemic control in diabetic patients with impaired endogenous insulin secretory capacity is vulnerable after a natural disaster: study of Great East Japan Earthquake. *Diabetes Care*. 査読有. 37 巻. 2014. e212-3. DOI: 10.2337/dc14-1479
13. Imai J, Yamada T, Satoh J, Katagiri H. Type B insulin resistance syndrome as an H. Pylori-associated autoimmune disease. *Journal of Endocrinology, Diabetes & Obesity*. 査読有. 2 巻. 2014. 1026. <https://www.jscimedcentral.com/Endocrinology/endocrinology-2-1026.pdf>
14. Kodama S, Yamada T, Imai J, Sawada S, Takahashi K, Tsukita S, Kaneko K, Uno K, Ishigaki Y, Oka Y, Katagiri H. Simultaneous copy number losses within multiple subtelomeric regions in early-onset type 2 diabetes mellitus. *PLoS One*. 査読有. 9 巻. 2014. e88602. DOI: 10.1371/journal.pone.0088602
15. Kondo K, Ishigaki Y, Gao J, Yamada T, Imai J, Sawada S, Muto A, Oka Y, Igarashi K, Katagiri H. Bach1 deficiency protects pancreatic β -cells from oxidative stress injury. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 査読有. 305 巻. 2013. E641-8. DOI: 10.1152/ajpendo.00120.2013
16. Izumida Y, Yahagi N, Takeuchi Y, Nishi M, Shikama A, Takarada A, Masuda Y, Kubota M, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Iizuka Y, Itaka K, Kataoka K, Shioda

S, Niiijima A, Yamada T, Katagiri H, Nagai R, Yamada N, Kadowaki T, Shimano H. Glycogen shortage during fasting triggers liver-brain-adipose neurocircuitry to facilitate fat utilization. Nat Commun. 査読有. 4巻. 2013. 2316.

DOI: 10.1038/ncomms3316.

17. Takagi M, Ishigaki Y, Uno K, Sawada S, Imai J, Kaneko K, Hasegawa Y, Yamada T, Tokita A, Iseki K, Kanno S, Nishio Y, Katagiri H, Mori E. Cognitive dysfunction associated with anti-glutamic acid decarboxylase autoimmunity: a case-control study. BMC Neurol. 査読有. 13巻. 2013. 76. DOI: 10.1186/1471-2377-13-76

〔学会発表〕(計 12 件)

1. 片桐秀樹, 臓器間神経ネットワークによる個体レベルでのエネルギー代謝制御機構. 第 86 回日本内分泌学会学術総会. 2013 年 4 月 25-27 日. 仙台国際センター(宮城県仙台市)
2. 片桐秀樹. メタボリックインフォメーションハイウェイ. 第 11 回日本糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム. 2013 年 10 月 25-26 日. 東北薬科大学(宮城県仙台市)
3. 片桐秀樹. 臓器間神経ネットワークとメタボリックシンドローム. 第 87 回日本内分泌学会学術総会. 2014 年 4 月 24-26 日. 福岡国際会議場(福岡県福岡市)
4. Kondo K, Gao J, Suzuki T, Ishigaki Y, Imai J, Yamada T, Katagiri H. CHOP Involvement in Hepatic Glucose Production and Insulin Resistance. 74th Scientific Sessions American Diabetes Association. 2014 年 6 月 13-17 日. San Francisco (USA)
5. Suzuki T, Gao J, Kondo K, Ishigaki Y, Imai J, Yamada T, Katagiri H. CHOP Modulates Adipose Tissue Macrophage Polarization. 74th Scientific Sessions American Diabetes Association. 2014 年 6 月 13-17 日. San Francisco (USA)
6. 片桐秀樹. Metabolic Surgery 後の代謝改善効果～神経系による代謝調節の面から. 第 32 回日本肥満症治療学会総会学術集会. 2014 年 7 月 4-5 日. ピアザ淡海(滋賀県大津市)
7. 片桐秀樹. 臓器間神経ネットワークによる個体レベルでの代謝制御機構. 第 47 回日本動脈硬化学会総会・学術集会. 2015 年 7 月 9-10 日. 仙台国際センター(宮城県仙台市)
8. 片桐秀樹. 代謝調節系の新たな視点～臓器連関による糖代謝調節系の理解～.

第 113 回日本内科学会総会・講演会. 2016 年 4 月 15-17 日. 東京国際フォーラム(東京都千代田区)

9. 片桐秀樹. 老化と臓器間ネットワーク. 第 58 回日本老年医学会学術集会. 2016 年 6 月 8-10 日. 石川県立音楽堂(石川県金沢市)
10. 片桐秀樹. 臓器間神経ネットワークによる個体レベルでの糖・エネルギー・脂質代謝制御機構. 第 38 回日本生物学的精神医学会・第 59 回日本神経化学学会大会. 2016 年 9 月 8-10 日. 福岡国際会議場(福岡県福岡市)
11. 片桐秀樹. 臓器間神経ネットワークによる個体レベルでの代謝制御機構とメタボリックシンドローム. 第 89 回日本生化学会大会. 2016 年 9 月 25-27 日. 仙台国際センター(宮城県仙台市)
12. 片桐秀樹. 臓器間ネットワークによる個体レベルでの糖・エネルギー・脂質代謝制御機構. 第 122 回日本解剖学会総会・全国学術集会. 2017 年 3 月 28-30 日. 長崎大学坂本キャンパス(長崎県長崎市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)
なし

取得状況(計 0 件)
なし

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

- (1)研究代表者
片桐 秀樹(KATAGIRI, Hideki)
東北大学・医学系研究科・教授
研究者番号: 00344664

(2)研究分担者
なし

(3)連携研究者
なし

(4)研究協力者

- 井泉 知仁(IZUMI, Tomohito)
浅井 洋一郎(ASAI, Yoichiro)、
宗像 祐一郎(MUNAKATA, Yuichiro)
山本 淳平(YAMAMOTO, Junpei)
白井 勇太(SHIRAI, Yuta)