

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 30 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461354

研究課題名(和文) 脂肪組織と骨格筋を制御する膜蛋白同定とメタボリック症候群における病態生理学的意義

研究課題名(英文) Identification and characterization of a novel protein that regulates adipogenesis and myogenesis

研究代表者

江口 潤 (EGUCHI, JUN)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：60616366

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：メタボリック症候群では脂肪組織量と骨格筋量の不均衡(肥満サルコペニア)が生じている。肥満サルコペニアは、全身のインスリン抵抗性や代謝異常を引き起こす。肥満サルコペニアを改善することはメタボリック症候群を基盤とした2型糖尿病をはじめとした様々な疾患の治療や発症抑制に効果があり、国民の健康維持、増進に有用であると考えられる。我々は、肥満サルコペニアによる全身のインスリン抵抗性発症に関与している可能性がある新規蛋白としてTmem97 (Transmembrane protein 97)を同定した。今後、Tmem97のインスリン抵抗性発症機序の詳細について検討していく。

研究成果の概要(英文)：Sarcopenic obesity refers to the co-presence of excess fat mass (obesity) and low muscle mass (sarcopenia). Sarcopenic obesity is a major risk factor for metabolic syndrome. Systemic insulin resistance is closely associated with the development of sarcopenic obesity. However, the pathophysiology of sarcopenic obesity in metabolic syndrome remains unclear. We identified Transmembrane protein 97 (Tmem97) as a novel regulator of adipogenesis and myogenesis by using lentiviral short hairpin RNA libraries targeting murine genomes. In the present study, we show that global Tmem97 deficient mice are protected from systemic insulin resistance associated with high fat feeding. These findings suggest that Tmem97 might play a key role in the development of sarcopenic obesity.

研究分野：糖尿病代謝学

キーワード：メタボリック症候群 肥満症 糖尿病

1. 研究開始当初の背景

メタボリック症候群では体内に脂肪組織が過剰に蓄積し、相対的かつ絶対的に骨格筋量が減少することにより脂肪組織量と骨格筋量の不均衡(肥満サルコペニア)が生じている。肥満サルコペニアは、全身のインスリン抵抗性や代謝異常を引き起こす。肥満サルコペニアを改善することはメタボリック症候群を基盤とした2型糖尿病をはじめとした様々な疾患の治療や発症抑制に効果があり、国民の健康維持、増進に有用であると考えられる。そのためには、肥満サルコペニアの発症に関わる遺伝子群や代謝経路を明らかにすることにより、発症機序を解明する必要があるが、その大部分は明らかになっていない。

2. 研究の目的

申請者は、多能性幹細胞から前駆脂肪細胞や筋芽細胞への分化を制御する新規運命決定因子を探索するため、マウス多能性幹細胞(C3H10T1/2細胞)へレンチウイルス shRNA ライブラリーを遺伝子導入し、脂肪細胞分化に関するスクリーニングを行った。その結果、膜蛋白 Tmem97 (Transmembrane protein 97)を同定した。Tmem97は、脂肪細胞と筋細胞の双方で活性を有する蛋白と考えられ、Tmem97の機能解析を行うことにより、メタボリック症候群における肥満サルコペニア発症の新しい分子機構を明らかにし、肥満サルコペニアを制御することにより、メタボリック症候群の新たな創薬ターゲット分子の同定を目指す。

3. 研究の方法

レンチウイルスベクターを用いて Tmem97 の過剰発現と発現抑制の実験を行い、脂肪細胞と筋細胞における Tmem97 の機能を検討する。脂肪細胞では、脂肪細胞分化、インスリン応答性糖取り込みに対する影響を、筋細胞においては、筋芽細胞分化に対する影響を評価する。次に、全身性 Tmem97 欠損マウス、脂肪細胞特異的トランスジェニックマウス、骨格筋特異的トランスジェニックマウスに高脂肪食負荷を行い、全身の耐糖能、インスリン感受性、遺伝子発現を解析することにより、Tmem97 のメタボリック症候群における病態生理学的意義、治療応用への可能性を明らかにすることが出来ると考えられる。

4. 研究成果

(1)脂肪組織と骨格筋の機能を制御する新規蛋白の同定

Tmem97 は、脂肪細胞の分化を抑制し筋芽細胞の分化を促進する蛋白である。

(2)培養細胞における機能解析

Tmem97 を過剰発現させた 3T3-L1 脂肪細胞ではインスリン応答性の糖取り込みが抑制され、Tmem97 を発現抑制した脂肪細胞ではインスリ

ン応答性の糖取り込みが亢進していた。

(3)脂肪細胞特異的及び、骨格筋特異的 Tmem97 トランスジェニックマウス、全身性 Tmem97 ノックアウトマウスを用いた機能解析

高脂肪食負荷した全身性 Tmem97 ノックアウトマウスは野生型マウスと比較し、全身のインスリン抵抗性の改善を認めた。aP2 プロモーターを用いて脂肪細胞特異的 Tmem97 トランスジェニックマウス作成し、HSA プロモーターを用いて骨格筋特異的 Tmem97 トランスジェニックマウスを作成した。脂肪細胞特異的 Tmem97 トランスジェニックマウスでは、高脂肪食下で野生型マウスと比較し、全身のインスリン抵抗性がより強く誘導されていた。骨格筋特異的 Tmem97 トランスジェニックマウスは、通常食下で野生型マウスと比較し、インスリン感受性の低下を認めた。

Tmem97 は、全身の臓器に発現し、細胞内では小胞体膜に存在する。機能的には肝臓でのコレステロール輸送に関わると報告されている。しかしながら、現在まで糖尿病、メタボリック症候群に関連するとの報告は皆無である。我々が行った上記の結果より、Tmem97 は生体内で脂肪組織と骨格筋でインスリン抵抗性を誘導する。Tmem97 は、メタボリック症候群において脂肪組織と骨格筋で全身のインスリン抵抗性発症に関与している可能性があり、現在そのメカニズムについて検討中である。

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 14 件)

Murakami K, Eguchi J, Hida K, Nakatsuka A, Katayama A, Sakurai M, Choshi H, Furutani M, Ogawa D, Takei K, Otsuka F, Wada J. Antiobesity Action of ACAM by Modulating the Dynamics of Cell Adhesion and Actin Polymerization in Adipocytes. *Diabetes*, 査読有, 65(5):2016,1255-67. DOI: 10.2337/db15-1304.

Higuchi C, Nakatsuka A, Eguchi J, Teshigawara S, Kanzaki M, Katayama A, Yamaguchi S, Takahashi N, Murakami K, Ogawa D, Sasaki S, Makino H, Wada J. Identification of circulating miR-101, miR-375 and miR-802 as biomarkers for type 2 diabetes. *Metabolism*, 査読有, 64(4),2015,489-97.DOI:10.1016/j.metabol.2014.12.003.

Wang Y, Katayama A, Terami T, Han X, Nunoue T, Zhang D, Teshigawara S, Eguchi J, Nakatsuka A, Murakami K, Ogawa D, Furuta Y, Makino H, Wada J. Translocase of inner mitochondrial membrane 44 alters the mitochondrial fusion and fission dynamics and protects

from type 2 diabetes. *Metabolism*, 査読有 64(6):2015,677-88,DOI: 10.1016/j.metabol.2015.02.004.

Ohashi M, Gamo K, Tanaka Y, Waki M, Beniyama Y, Matsuno K, Wada J, Tenta M, Eguchi J, Makishima M, Matsuura N, Oyama T, Miyachi H. Structural design and synthesis of arylalkynyl amide-type peroxisome proliferator-activated receptor gamma(PPAR γ)-selective antagonists based on the helix12-folding inhibition hypothesis. *Eur J Med Chem*. 査読有 27,90:2015,53-67,doi: 10.1016/j.ejmech.2014.11.017.

Terami N, Ogawa D, Tachibana H, Hatanaka T, Wada J, Nakatsuka A, Eguchi J, Horiguchi CS, Nishii N, Yamada H, Takei K, Makino H. Long-term treatment with the sodium glucose cotransporter 2 inhibitor, dapagliflozin, ameliorates glucose homeostasis and diabetic nephropathy in db/db mice. *PLoS One*, 査読有 9(6):2014,e100777, DOI:10.1371/journal.pone.0100777. eCollection 2014.

Watanabe M, Nakatsuka A, Murakami K, Inoue K, Terami T, Higuchi C, Katayama A, Teshigawara S, Eguchi J, Ogawa D, Watanabe E, Wada J, Makino H. Pemt deficiency ameliorates endoplasmic reticulum stress in diabetic nephropathy. *PLoS One*, 査読有,9 (3): e92647,DOI:10.1371/journal.pone.0092647. eCollection 2014.

Ogawa D, Eguchi J, Wada J, Terami N, Hatanaka T, Tachibana H, Nakatsuka A, Horiguchi CS, Nishii N, Makino H. Nuclear hormone receptor expression in mouse kidney and renal cell lines. *PLoS One*, 査読有,9 (1): 2014, e85594, DOI:10.1371/journal.pone.0085594. eCollection 2014.

Tachibana H, Ogawa D, Sogawa N, Asanuma M, Miyazaki I, Terami N, Hatanaka T, Horiguchi CS, Nakatsuka A, Eguchi J, Wada J, Yamada H, Takei K, Makino H. Metallothionein deficiency exacerbates diabetic nephropathy in streptozotocin-induced diabetic mice. *Am J Physiol Renal Physiol*, 査読有 306 (1): 2014, F105-15, DOI: 10.1152/ajprenal.00034.2013.

Eguchi J, Kong X, Tenta M, Wang X, Kang S, and Rosen ED. Interferon regulatory factor 4 regulates

obesity-induced inflammation through regulation of adipose tissue macrophage polarization. *Diabetes*, 査読有 62(10): 2013,3394-403,DOI:10.2337/db12-1327.

Terami T, Wada J, Inoue K, Nakatsuka A, Ogawa D, Teshigawara S, Murakami K, Katayama A, Eguchi J, Makino H. Urinary angiotensinogen is a marker for tubular injuries in patients with type 2 diabetes. *Int J Nephrol Renovasc Dis*, 査読有 6:2013,233-40,DOI: 10.2147/IJNRD.S51829. eCollection 2013.

Inoue K, Wada J, Eguchi J, Nakatsuka A, Teshigawara S, Murakami K, Ogawa D, Terami T, Katayama A, Tone A, Iseda I, Hida K, Yamada M, Ogawa T, Makino H. Urinary fetuin-A is a novel marker for diabetic nephropathy in type 2 diabetes identified by lectin microarray. *PLoS One*, 査読有 8 (10): 2013,e77118,DOI:10.1371/journal.pone.0077118. eCollection 2013.

Kurose Y, Wada J, Kanzaki M, Teshigawara S, Nakatsuka A, Murakami K, Inoue K, Terami T, Katayama A, Watanabe M, Higuchi C, Eguchi J, Miyatake N, Makino H. Serum galectin-9 levels are elevated in the patients with type 2 diabetes and chronic kidney disease. *BMC Nephrol*, 査読有 14:2013,23,doi: 10.1186/1471-2369-14-23.

Nakatsuka A, Wada J, Iseda I, Teshigawara S, Higashio K, Murakami K, Kanzaki M, Inoue K, Terami T, Katayama A, Hida K, Eguchi J, Ogawa D, Matsuki Y, Hiramatsu R, Yagita H, Kakuta S, Iwakura Y, Makino H. Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor inhibits apoptosis of endothelial cells as a ligand for the cell-surface GRP78/voltage-dependent anion channel complex. *Circ Res*, 査読有 112(9):2013,e98,DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.111.300049.

Sato-Horiguchi C, Ogawa D, Wada J, Tachibana H, Kodera R, Eguchi J, Nakatsuka A, Terami N, Shikata K, Makino H. Telmisartan attenuates diabetic nephropathy by suppressing oxidative stress in db/db mice. *Nephron Exp Nephrol*, 査読有 121 (3-4):2013,e97-e108,DOI:10.1159/000343102.

〔学会発表〕(計2件)

Jun Eguchi Functional roles of proline/arginine-rich end leucine-rich repeat protein (PRELP) in adipocytes, Keystone Symposia, バンフ(カナダ),2016年2月16日

江口 潤 脂肪組織の機能を制御する新規因子の同定と機能解析 第36回日本肥満学会名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)、2015年10月2日

〔図書〕(計0件)

特記事項なし。

〔産業財産権〕

特記事項なし。

〔その他〕

特記事項なし。

6. 研究組織

(1)研究代表者

江口 潤 (EGUCHI, Jun)

岡山大学病院・腎臓・糖尿病・内分泌内科・助教

研究者番号:60616366