

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 20 日現在

機関番号：82654

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461372

研究課題名(和文) 食事に起因する酸化ストレスによる生活習慣病発症の機序の解明

研究課題名(英文) Elucidation of pathogenesis of the onset of lifestyle-related diseases due to oxidative stress derived from diet components

研究代表者

榎山 暁史 (Kushiya, Akifumi)

公益財団法人朝日生命成人病研究所・その他部局等・教授

研究者番号：30435820

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：食事の成分、特に砂糖・脂質は生活習慣病の発症に極めて関連が強いが、これらは尿酸代謝の律速酵素であるキサンチンオキシダーゼ(XOR)の活性に深く関連し、XOR活性により尿酸が産生される際に活性酸素種(ROS)を生じる。これまで我々は、動脈硬化巣マクロファージにXORが存在することと、XORの活性が動脈硬化の進展に關与することを突き止めた。

さらに本研究において、XORの発現を組織特異的に変化させるマウスを作出し、生活習慣病食負荷を行い、食事の内容によるXORの活性化の仕組みの一部を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The diet components, especially sugar and lipid, are closely related to the development of lifestyle-related diseases. Although, the components are strongly influenced to the activity of Xanthine oxidoreductase, XOR, playing a role as rate-limiting enzyme of uric acid metabolism with accompanying ROS generation.

Our previous study clarified the involvement of macrophage-derived XOR activity in pathogenesis of atherosclerosis. In this study, I established the mice strains which change tissue-specific expression of XOR. They were fed with a various diets' load and their lifestyle-related diseases get worse. The analysis of these mice were partly clarified the involvement of the XOR activation due to the diet component.

研究分野：代謝学

キーワード：生活習慣病 尿酸 キサンチンオキシダーゼ

1. 研究開始当初の背景

食事の成分、特に砂糖・脂質は生活習慣病の発症に極めて関連が強いが、これらは尿酸代謝の律速酵素であるキサンチンオキシダーゼ (XOR) の活性に深く関連し、XOR 活性により尿酸が産生される際に活性酸素種 (ROS) を生じる。これまで我々は、動脈硬化巣マクロファージに XOR が存在すること、XOR の活性が動脈硬化の進展に関与することを突き止めた (ATVB, 2012, Am J Nephrol 2011)。

2. 研究の目的

本研究の目的は、XOR の発現を組織特異的に変化させるマウスを作出し、生活習慣病食 (高フルクトース食・高脂質食) 負荷やモデルマウスとのかけあわせを行うことで、食事の内容によって XOR がどのように活性化されるか、また、その際にどの組織・細胞の XOR 活性由来の ROS が、生活習慣病発症の原因や進展の原因となるかを解明することを目指すものである。

3. 研究の方法

(1) XOR のコンディショナルノックアウトマウス (XOR fl/fl マウス) を入手し、組織特異的プロモーター-Cre マウスとの交配を行い、組織特異的 XORKO マウスを得る。

(2) 得られた組織特異的 XORKO マウスを用いて、高フルクトース食・高脂質食負荷の後、生理学的検査や組織学的検査を行い、生活習慣病発症の原因となる組織障害の有無の観察を行った。

(3) 研究の過程において XOR の有無が影響したマクロファージに注目し、マクロファージの細胞生物学的解析を行った。

4. 研究成果

(1) XOR のコンディショナルノックアウトマウス (XOR fl/fl マウス) と組織特異的プロモーター-Cre マウスとの交配により、組織特異的 XORKO マウスとして、マクロファージ (M ϕ) 特異的 XORKO マウス、血管内皮特異的 XORKO マウス、肝細胞特異的 XORKO マウスの 3 系統を得た。

(2) 糖負荷・インスリン負荷では M XORKO マウスのみが血糖が改善した。ROS 産生のマーカーは Sucrose の負荷により上昇するが、M XORKO マウスでは抑制された。肝では脂質による ROS 産生が上昇するが、M ではフルクトースによる ROS 産生が盛んであった。

(3) M XORKO マウスの単離腹腔内 M ではフルクトース投与によって NF B p65Ser536 がリン酸化されるが、XORKOM ではこれが完全に抑制された。さらに XORKOM では JNK のリン酸化が強く抑制された。M XORKO マウス由来 SVF では M1/M2 比が減少した。さらに M 特異的 XORKO マウスでは、耐糖能・インスリン抵

抗性の改善を認めた。なお肝特異的 XORKO マウスでは耐糖能・インスリン抵抗性に変化を認めなかった。

以上より、フルクトース負荷によってマクロファージにおける NF B 及び JNK を介した炎症反応が亢進するが、この系はマクロファージ由来の XOR を介していることが明らかとなった。マクロファージ XOR がフルクトースによる炎症・動脈硬化の治療標的となることが示唆された。

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 20 件)

Sonoda R, Kushiya A (一番最後・責任著者) et.al.

C-Peptide Level in Fasting Plasma and Pooled Urine Predicts HbA1c after Hospitalization in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus.

PLoS One. 2016 Feb 5;11(2):e0147303. doi: 10.1371/journal.pone.0147303

Kushiya A, et.al. (9人中1番目・責任著者)

Prediction of the effect on antihyperglycaemic action of sitagliptin by plasma active form glucagon-like peptide-1

World Journal of Diabetes, in press

Okubo H, Kushiya A, (18人中2番目) Asano T. et.al.

Involvement of resistin-like molecule in the development of methionine-choline deficient diet-induced non-alcoholic steatohepatitis in mice.

Sci Rep. 2016 Jan 28;6:20157.

doi: 10.1038/srep20157.

Qiang S, Fujishiro M, Sakoda H, Kushiya A, (11人中6番目) Asano T. et.al.

Treatment with the SGLT2 inhibitor luseogliflozin improves nonalcoholic steatohepatitis in a rodent model with diabetes mellitus.

Diabetol Metab Syndr. 2015 Nov 19;7:104.

doi:10.1186/s13098-015-0102-8.

Nakatsu Y, Kushiya A (16人中9番目), Asano T. et.al.

Prolyl isomerase Pin1 negatively regulates AMP-activated protein kinase (AMPK) by associating with the CBS domain in the subunit.

J Biol Chem. 2015 Oct 2;290(40):24255-66.
doi: 10.1074/jbc.M115.658559.

Matsunaga Y, Kushiyaama A(15人中9番目), Asano T. et.al.
LUBAC Formation Is Impaired in the Livers of Mice with MCD-Dependent Nonalcoholic Steatohepatitis. Mediators Inflamm. 2015;2015:125380.
doi:10.1155/2015/125380

Shinjo T, Kushiyaama A(10人中7番目), Asano T. et.al.
High-fat diet feeding significantly attenuates anagliptin-induced regeneration of islets of Langerhans in streptozotocin-induced diabetic mice. Diabetol Metab Syndr. 2015 Jun 2;7:50.
doi:10.1186/s13098-015-0047-y.

Sano T, Kushiyaama A(10人中7番目), Nishimura F.
Protection from diet-induced obesity and insulin resistance in mice lacking CCL19-CCR7 signaling. Obesity(Silver Spring). 2015 Jul;23(7):1460-71.
doi: 10.1002/oby.21127.

Kanaoka R, Kushiyaama A(13人中2番目), Asano T.
Pin1 Inhibitor Juglone Exerts Anti-Oncogenic Effects on LNCaP and DU145 Cells despite the Patterns of Gene Regulation by Pin1 Differing between These Cell Lines. PLoS One. 2015 Jun 3;10(6):e0127467.
doi: 10.1371/journal.pone.0127467.

Shinjo T, Kushiyaama A(13人中7番目), Asano T.
DPP-IV inhibitor anagliptin exerts anti-inflammatory effects on macrophages, adipocytes, and mouse livers by suppressing NF- B activation. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2015 Aug 1;309(3):E214-23.
doi: 10.1152/ajpendo.00553.2014.

Nakatsu Y, Seno Y, Kushiyaama A(13人中3番目), Asano T.
The xanthine oxidase inhibitor febuxostat suppresses development of nonalcoholic steatohepatitis in a rodent model. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2015 Jul 1;309(1):G42-51.
doi: 10.1152/ajpgi.00443.2014.

Tanaka K, Kushiyaama A(8人中最後

correspondence). et.al.
Role of elevated serum uric acid levels at the onset of overt nephropathy in the risk for renal function decline in patients with type 2 diabetes. J Diabetes Investig. 2015 Jan;6(1):98-104.
doi: 10.1111/jdi.12243. Epub

Kushiyaama A, Tanaka K, Hara S, Kawazu S. Linking uric acid metabolism to diabetic complications. World J Diabetes. 2014 Dec 15;5(6):787-95.
doi:10.4239/wjd.v5.i6.787. Review.

Okubo H, Kushiyaama A(14人中4番目), Asano T.
Mosapride citrate improves nonalcoholic steatohepatitis with increased fecal lactic acid bacteria and plasma glucagon-like peptide-1 level in a rodent model. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2015 Jan 15;308(2):G151-8.
doi:10.1152/ajpgi.00198.2014.

Kushiyaama A, Yoshida Y, Kikuchi T, Suzawa N, Yamamoto M, Tanaka K, Okayasu M, Tahara T, Takao T, Onishi Y, Kawazu S.
Twenty-year trend of increasing obesity in young patients with poorly controlled type 2 diabetes at first diagnosis in urban Japan. J Diabetes Investig. 2013 Nov 27;4(6):540-5.
doi: 10.1111/jdi.12090.

Hashikata A, Kushiyaama A(15人中13番目), Nishimura F.
The inflammation-lipocalin 2 axis may contribute to the development of chronic kidney disease. Nephrol Dial Transplant. 2014 Mar;29(3):611-8.
doi: 10.1093/ndt/gft449.

Okubo H, Sakoda H, Kushiyaama A(14人中3番目), Asano T.
Lactobacillus casei strain Shirota protects against nonalcoholic steatohepatitis development in a rodent model. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2013 Dec;305(12):G911-8.
doi: 10.1152/ajpgi.00225.2013.

Zhang J, Kushiyaama A(20人中9番目), Asano T.

Par14 protein associates with insulin receptor substrate 1 (IRS-1), thereby enhancing insulin-induced IRS-1 phosphorylation and metabolic actions.

J Biol Chem. 2013 Jul 12;288(28):20692-701.
doi: 10.1074/jbc.M113.485730.

Kushiya A, Sakoda H, Oue N, Okubo M, Nakatsu Y, Ono H, Fukushima T, Kamata H, Nishimura F, Kikuchi T, Fujishiro M, Nishiyama K, Aburatani H, Kushiya S, Iizuka M, Taki N, Encinas J, Sentani K, Ogonuki N, Ogura A, Kawazu S, Yasui W, Higashi Y, Kurihara H, Katagiri H, Asano T.

Resistin-like molecule is abundantly expressed in foam cells and is involved in atherosclerosis development.

Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2013 Aug;33(8):1986-93.
doi:10.1161/ATVBAHA.113.301546.

Iwashita M, Kushiya A(11人中5番目), Asano T.

Valsartan restores inflammatory response by macrophages in adipose and hepatic tissues of LPS-infused mice. Adipocyte. 2013 Jan 1;2(1):28-32.

- 21 Otani Y, Kushiya A(14人中6番目), Asano T.

Integrator complex plays an essential role in adipose differentiation. Biochem Biophys Res Commun. 2013 May 3;434(2):197-202.

doi: 10.1016/j.bbrc.2013.03.029.

[学会発表](計15件)

Kushiya, A. et.al. "Extrahepatic xanthine oxidoreductase as a therapeutic target for diabetes mellitus and its complications" Diabetes: New Insights into Molecular Mechanisms and Therapeutic Strategies Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology / Westin Miyako Kyoto · Kyoto:October 25-29, 2015

Yamazaki, H., Kushiya, A., et.al. "Novel insights into anti-diabetic effects of sex hormone binding globulin (SHBG): anti-inflammatory actions on both adipocytes and macrophages"

Diabetes: New Insights into Molecular Mechanisms and Therapeutic Strategies Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology/ Westin Miyako Kyoto · Kyoto:October 25-29, 2015
櫛山 暁史 『フルクトースの誘導する炎

症におけるマクロファージ由来キサンチン酸化還元酵素の役割』第6回 Molecular Cardiovascular Conference II / ヒルトン福岡シーホーク・福岡県福岡市:9月4-5日, 2015

櫛山 暁史 『ランチョンセミナー7・尿酸代謝と粥状動脈硬化・高すぎる尿酸値と低すぎる尿酸値の動脈硬化リスク』第47回 動脈硬化学会学術集会 / 仙台国際センター・宮城県仙台市:7月9-10日, 2015

櫛山 暁史 他 『マクロファージにおける糖代謝による活性酸素産生とインスリン抵抗性』第58回日本糖尿病学会学術集会 / 海峡メッセ下関・山口県下関市:5月21-24日, 2015

櫛山 暁史 他 『糖代謝に伴う核酸代謝由来酸化ストレスと臓器障害』第37回日本分子生物学会 / 神戸ポートピアホテル・兵庫県神戸市:11月25-27日, 2014
櫛山 暁史 他 『Resistin like molecule を介したマクロファージ分化と脂肪蓄積』第35回日本肥満学会 / フェニックスシーガイアリゾート・宮崎県宮崎市:10月23-25日, 2014

櫛山 暁史 他 『食事成分に起因する組織特異的キサンチン酸化還元酵素を介した核酸代謝と酸化ストレス』第5回 Molecular Cardiovascular Conference II / 神戸ポートピアホテル・兵庫県神戸市:9月4-6日, 2014

Kushiya A. et.al. "Involvement of Resistin-like Molecule in the Development of Nonalcoholic Steatohepatitis" 74th Scientific Sessions, The American Diabetes Association (ADA) / San Francisco, CA, USA: June 13-17, 2014

櫛山 暁史 他 『マクロファージ resistin like molecule によるインスリン抵抗性・動脈硬化発症の機序』第57回日本糖尿病学会年次学術集会 / 大阪国際会議場 他・大阪府大阪市:5月22-24日, 2014

Kushiya A. et.al. "Macrophage resistin-like molecule is involved in atherosclerosis development" 18th International Vascular Biology Meeting (IVBM 2014) / Miyakomesse · Kyoto:4月14-17日, 2014

櫛山 暁史 他 『心電計の周波数解析を用いた2型糖尿病患者の心筋障害と最小血管障害の関連の解析』第51回日本糖尿病学会関東甲信越地方会 / パシフィコ横浜・神奈川県横浜市:1月18日, 2014

櫛山 暁史 他 『食事成分が誘引となる血管障害』第4回 Molecular Cardiovascular Conference II / キロロリゾート・北海道余市郡:9月6-8日, 2013

Kushiya A. et.al. " Involvement of macrophage-derived resistin like molecule in atherosclerosis development " 第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 / 京王プラザホテル・東京都東京 : 7 月 18 - 19 日 , 2013
櫛山 曉史 他 『空腹時活性化 GLP-1 による DPP4 阻害薬シタグリプチンの効果予測』第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会 / 熊本市民会館 他・熊本県熊本市 : 5 月 16 - 18 日 , 2013

〔図書〕(計 2 件)

櫛山 曉史 『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～』より『動脈硬化(尿酸と血管リモデリング)の形成と進展 アテローム性動脈硬化』メディカルレビュー社,80-87,2015
櫛山 曉史 『糖尿病医師・医療スタッフの PRACTICE』より『果糖の影響と適切な摂取量』医歯薬出版 32 巻 3 号 346-347, 2015

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)
該当なし

取得状況(計 1 件)

名称:大腸癌、動脈硬化症、又はメタボリックシンドロームの検出方法
発明者:浅野 知一郎・櫛山 曉史
権利者:国立大学法人広島大学/公益財団法人朝日生命成人病研究所
種類:特許公報(B2)
番号:特許第 5 4 2 9 7 2 3 号(P5429723)
取得年月日:平成 2 5 年 1 2 月 1 3 日
国内外の別:国内

〔その他〕

ホームページ等
朝日生命成人病研究所 研究所部門
<http://www.asahi-life.or.jp/laboratory/index.html>

Facebook 朝日生命成人病研究所
<https://www.facebook.com/朝日生命成人病研究所-271848716217450/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

櫛山 曉史(KUSHIYAMA Akifumi)
公益財団法人 朝日生命成人病研究所・教授
研究者番号:30435820

(2)研究分担者

該当なし

(3)連携研究者

迫田 秀之(SAKODA, Hideyuki)
宮崎大学 第三内科・講師
研究者番号:50376464

浅野 知一郎(ASANO Tomoichirou)
広島大学 大学院医歯薬保健学研究院・教授
研究者番号:70242063

栗原 裕基(KURIHARA, Hiroki)
東京大学 大学院・医学研究科・教授
研究者番号:20221947