

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 1 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461337

研究課題名(和文)肥満病態形成におけるPGC1 新規スプライシングバリエーションの役割

研究課題名(英文)Role of novel variants of PGC-1 α in the pathogenesis of obesity

研究代表者

野村 和弘 (Nomura, Kazuhiro)

神戸大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：70450236

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)：マウスの骨格筋では、 β 2アドレナリン受容体作動薬を投与した際、運動時と同様に PGC-1 b/cの発現が顕著に誘導され、エネルギー消費も顕著に増大することから、PGC-1 b/cは β 2アドレナリン刺激を介してその発現が増大し、エネルギー消費の亢進に重要な役割を担うと考えられた。また、肥満マウスの骨格筋では、 β 2アドレナリン受容体作動薬によるPGC-1 の発現増加およびエネルギー消費の増大は抑制されていた。この時、骨格筋では各アドレナリン受容体アイソフォームのうち、 β 2アドレナリン受容体の発現が特異的に低下し、アドレナリンシグナルの減弱、すなわち「アドレナリン抵抗性」といふべき病態が生じていた。

研究成果の概要(英文)：A β 2 agonist clenbuterol specifically up-regulated PGC-1 b/c in skeletal muscle, and the exercise-induced up-regulation of PGC-1 b/c in skeletal muscle was inhibited by a β -adrenergic antagonist propranolol. These data indicate that the β 2 adrenergic signaling is responsible for exercise-induced induction of PGC-1 b/c. The expression of PGC-1 b/c induced by clenbuterol was impaired in skeletal muscle of obese model mice. In skeletal muscle of obese animals, the expression of β 2 adrenergic receptor (Adrb2) mRNA was decreased and the percentage of methylated CpG sites in the Adrb2 promoter was increased as compared to non-obese mice, suggesting that the epigenetic regulation of Adrb2 likely contributes to the development of adrenaline resistance via the downregulation of Adrb2 in skeletal muscle.

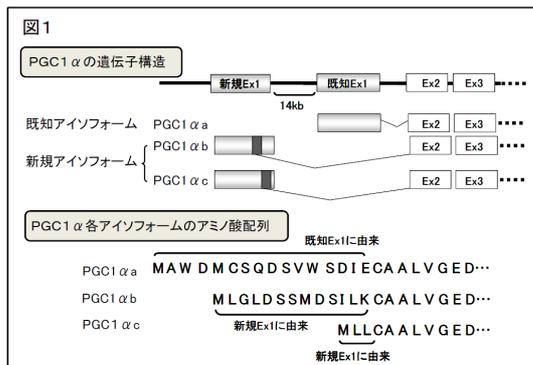
研究分野：医歯薬学

キーワード：エネルギー代謝 肥満

1. 研究開始当初の背景

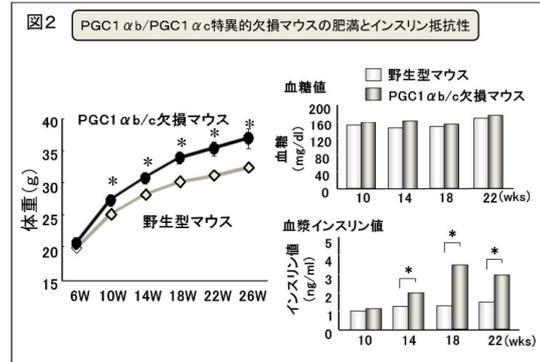
PGC-1 α は骨格筋や褐色脂肪組織においてミトコンドリア機能や熱産生を制御し、エネルギー代謝調節に重要な機能を果たす転写コアクチベーターである。最近、2型糖尿病患者の骨格筋ではミトコンドリア機能が低下していることが報告され、また、2型糖尿病患者や肥満者の骨格筋では、PGC-1 α によって誘導される遺伝子群の発現が低下することも複数の施設より報告がある。これらの知見は PGC-1 α の発現低下や機能障害が肥満やインスリン抵抗性の発症に関わる可能性を強く示唆するものである。しかし、これまでに報告されている PGC-1 α の全身での欠損マウスや骨格筋特異的 PGC-1 α 欠損マウスは、肥満もインスリン抵抗性も示さず、PGC-1 α の機能異常とインスリン抵抗性の関係を直接証明した成績は存在しない。

代表者らは既知 PGC-1 α の第一エクソン上流 14kb に存在する新規な第一エクソンから転写が開始される PGC-1 α の新規アイソフォーム 2 種を同定し、既知 PGC-1 α を PGC-1 α a、新規アイソフォームを PGC-1 α b 及び PGC-1 α c (PGC-1 α b/c) と呼ぶことを提唱した(図 1)。

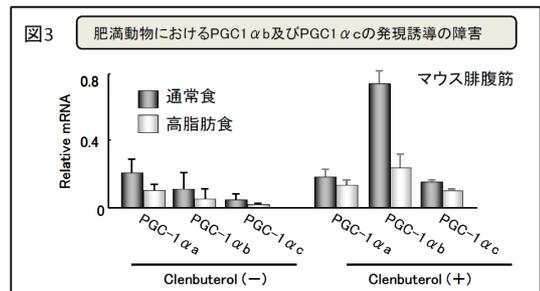


既知 PGC-1 α (PGC-1 α a) が比較的広範な臓器分布を示すのに対し、PGC-1 α b/c の発現は活発なエネルギー消費臓器である骨格筋、褐色脂肪組織及び心筋に局限していた。また、運動により骨格筋では PGC-1 α b/c の発現が安静時の数 10 数倍から 100 倍以上と著しく増加するのに対し、既知 PGC-1 α の発現増加はごく軽微であり、運動による PGC-1 α の発現増加の本態は PGC-1 α b/c が担うことを明らかとした。さらに、PGC-1 α b/c の特異的欠損マウスを作成したところ、このマウスは運動に

よる脂肪酸酸化やエネルギー消費が抑制され、その結果、肥満とインスリン抵抗性を示すことも見出している(図 2)。これらの結果は、骨格筋において運動によって発現が増加し、運動による代謝改善機能を担うのは、既知 PGC-1 α ではなく代表者らが同定した新規アイソフォーム PGC-1 α b/c であることを示唆する。



また代表者らは、肥満モデルマウスでは 2 アドレナリン受容体アゴニストをはじめとするいくつかの運動模倣刺激薬による骨格筋での PGC-1 α b/c の発現誘導が減弱していることを見出している(図 3)。これらの結果は、新規アイソフォーム PGC-1 α b/c の発現誘導の減弱が肥満の病態に関与する可能性を示唆すると考えられる。



2. 研究の目的

PGC-1 α 新規アイソフォームが、骨格筋における運動時のエネルギー代謝の制御を通じ、個体の適切な体重やインスリン感受性の維持に重要な機能を果たし、PGC-1 α b/c の発現減弱が肥満の原因の 1 つになるという仮説を明らかにすることを目的とする。また肥満モデル動物の骨格筋における PGC-1 α b/c 遺伝子の誘導不全の原因は、 β 2 アドレナリン受容体/PGC-1 α b/c 経路の減弱による「アドレナリン抵抗性」に起因する可能性が考えられるため、骨格筋特異的 β 2 アドレナリン受容体欠

損マウスを作製し、肥満の病態形成における $\beta 2$ アドレナリン受容体/PGC-1 α b/c 経路の重要性を明らかにする。

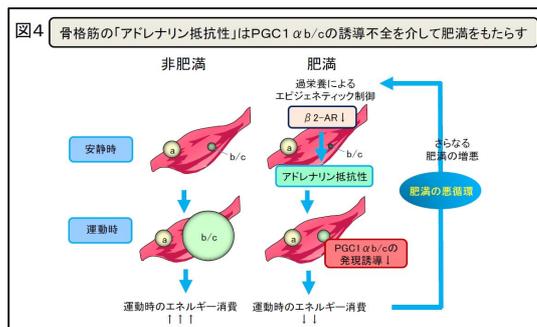
3. 研究の方法

(1) PGC-1 新規アイソフォームの発現誘導メカニズムの解析

これまでの結果から $\beta 2$ アドレナリン受容体刺激シグナルが PGC-1 b/c を特異的に発現誘導できることを見出している。それ以外にもカフェイン、フォルスコリン、カルシウムイオンといった運動を模倣すると考えられる様々な薬剤を C57BL/6 マウスに腹腔内投与し、PGC-1 各アイソフォームの発現誘導をリアルタイム PCR で確認した。

(2) PGC-1 新規アイソフォームの肥満モデル動物における発現誘導の減弱 (アドレナリン抵抗性) メカニズムの解析

肥満モデル動物では、骨格筋において $\beta 2$ アドレナリン受容体刺激シグナルが減弱し、「アドレナリン抵抗性」が生じている可能性が考えられ、その結果 PGC-1 b/c 遺伝子の誘導不全を介して肥満を増悪させるという仮説を構築した (図 4)。また肥満のどのような因子が「アドレナリン抵抗性」を引き起こすのかそのメカニズムについて検討した。



さらに、 $\beta 2$ アドレナリンシグナルの重要性を明らかとするため、 $\beta 2$ アドレナリン受容体遺伝子 flox マウスと MILC1f-Cre マウスの交配により、骨格筋特異的 $\beta 2$ アドレナリン受容体欠損マウスを作製した。

4. 研究成果

(1) PGC-1 新規アイソフォームの発現誘導メカニズムの解析

各種運動類似刺激の中でも $\beta 2$ アドレナリン刺激薬が最も特異的に骨格筋における PGC-1 b/c の発現を増加させた。また PGC-1 b/c 欠損マウスでは運動によるエネルギー消費が低下していたが、 $\beta 2$ アドレナリン受容体刺激薬によるエネルギー消費の増加も野生型マウスに比べ減弱していた。また、マウスの骨格筋では $\beta 2$ アドレナリン受容体作動薬を投与した際、運動時と同様に PGC-1 b/c の発現が顕著に誘導され、エネルギー消費も顕著に増大することから、 $\beta 2$ アドレナリン刺激を介して PGC-1 b/c の発現が増加し、エネルギー消費の亢進に重要な役割を担うと考えられた。

(2) PGC-1 新規アイソフォームの肥満モデル動物における発現誘導の減弱 (アドレナリン抵抗性) メカニズムの解析

肥満モデルマウスの骨格筋では、PGC-1 b/c の発現誘導に関わると考えられた $\beta 2$ アドレナリン刺激薬による PGC-1 b/c の発現増加およびエネルギー消費の増大が著しく抑制されていた。この時、肥満モデルマウスの骨格筋では、 $\beta 2$ アドレナリン受容体の発現が特異的に低下し、アドレナリン感受性の低下、即ち「アドレナリン抵抗性」が生じていた。また、 $\beta 2$ アドレナリン受容体の発現低下は mRNA レベルで生じていることが明らかとなった。さらに、 $\beta 2$ アドレナリン受容体遺伝子のプロモーター領域の DNA メチル化レベルを検討すると、肥満マウスの骨格筋では高メチル化状態にあることが明らかとなった。すなわち、肥満では過栄養がもたらすエピジェネティック制御により骨格筋の $\beta 2$ アドレナリン受容体の発現低下による「アドレナリン抵抗性」を引き起こし、PGC-1 b/c の発現減弱を介してエネルギー消費の増大抑制、肥満を惹起する可能性が考えられた。

また、骨格筋特異的 $\beta 2$ アドレナリン受容体欠損マウスは運動による耐糖能改善効果が減弱し肥満を来すことから、肥満の病態形成における $\beta 2$ アドレナリン受容体 /PGC-1 α b/c 経路の重要性が明らかとなった。

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)

[学会発表](計 20 件)

Kazuhiro Nomura, Tetsuya Hosooka, Tsutomu Sasaki, Tadahiro Kitamura, Hiroshi Sakaue, Masato Kasuga, Wataru Ogawa Role of novel variants of PGC-1 in the Pathogenesis of Obesity. 8th AASD Scientific Meeting 2016.10.27-30 Taipei

野村和弘、小川渉 エネルギー代謝制御における骨格筋アドレナリンシグナルの重要性と肥満病態形成における役割 第 37 回日本肥満学会 2016.10.2-3 東京

野村和弘、細岡哲也、佐々木努、北村忠弘、阪上浩、春日雅人、小川渉 骨格筋アドレナリン抵抗性の分子機構と肥満病態形成における役割 第 2 回日本筋学会学術集会 2016.8.5-6 小平

野村和弘、細岡哲也、佐々木努、北村忠弘、阪上浩、春日雅人、小川渉 骨格筋アドレナリン抵抗性の分子機構と肥満病態形成における役割 第 59 回日本糖尿病学会年次学集会 2016.5.19-21 京都

野村和弘、細岡哲也、佐々木努、北村忠弘、阪上浩、春日雅人、小川渉 肥満における骨格筋アドレナリン抵抗性の関与と PGC-1 新規アイソフォームの役割 第 89 回日本内分泌学会学術総会 2016.4.21-23 京都

野村和弘、細岡哲也、佐々木努、北村忠弘、阪上浩、春日雅人、小川渉 PGC1 新規アイソフォームの肥満病態形成における役割 第 36 回日本肥満学会 2015.10.2-3 名古屋

Kazuhiro Nomura Role of novel variants of PGC-1 in the regulation of energy metabolism. The 46th NIPS International Symposium 2015.10.2-3

Nagoya

野村和弘、細岡哲也、佐々木努、北村忠弘、阪上浩、春日雅人、小川渉 PGC-1 新規アイソフォームの機能解析を通じた運動による代謝改善機構の解明 第 34 回内分泌代謝学サマーセミナー 2015.7.9-11 柳川

野村和弘、細岡哲也、佐々木努、北村忠弘、阪上浩、春日雅人、小川渉 肥満病態形成における骨格筋アドレナリン抵抗性の関与と PGC-1 新規アイソフォームの役割 第 58 回日本糖尿病学会年次学集会 2015.5.21-24 下関

野村和弘、細岡哲也、佐々木努、北村忠弘、阪上浩、春日雅人、小川渉 肥満病態形成における骨格筋アドレナリン抵抗性の関与 第 88 回日本内分泌学会学術総会 2015.4.23-25 東京

野村和弘、小川渉 PGC-1 新規アイソフォームの機能解析を通じた運動による代謝改善機構の解析 第 35 回日本肥満学会 2016.10.24-25 宮崎

野村和弘、水崎奈央、細岡哲也、佐々木努、北村忠弘、阪上浩、春日雅人、小川渉 骨格筋のアドレナリン抵抗性は PGC1 新規アイソフォームの誘導不全により肥満を惹起する 第 57 回日本糖尿病学会年次学集会 2014.5.22-24 大阪

野村和弘、水崎奈央、細岡哲也、佐々木努、北村忠弘、阪上浩、春日雅人、小川渉 骨格筋のアドレナリン抵抗性は PGC-1 新規アイソフォームの誘導不全により肥満を惹起する 第 51 回日本臨床分子医学会学術集会 2014.4.11-12 東京

野村和弘、水崎奈央、細岡哲也、佐々木努、北村忠弘、阪上浩、春日雅人、小川渉 骨格筋のアドレナリン抵抗性は PGC1 新規アイソフォームの誘導不全により肥満を惹起する 第 85 回日本内分泌学会学術総会 2014.4.24-26 福岡

[その他]

研究室ホームページ
<http://www.med.kobe-u.ac.jp/im2/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野村 和弘 (NOMURA KAZUHIRO)

神戸大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：70450236

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし