

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 17 日現在

機関番号：32665

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670066

研究課題名(和文) 脂肪細胞のダイオキシン受容体(AhR)はインスリン抵抗性誘発の責任分子か？

研究課題名(英文) Is Ah receptor responsible for insulin-resistance in the adipose tissue ?

研究代表者

榛葉 繁紀 (SHIMBA, Shigeki)

日本大学・薬学部・教授

研究者番号：20287668

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：高脂肪食下で飼育したダイオキシン受容体欠損マウスは、野生型マウスに比較して良好な耐糖能およびインスリン感受性の増加を示した。体重増加率ならびに脂肪組織重量に違いは認められなかった。ダイオキシン受容体欠損マウスの脂肪組織においてマクロファージの浸潤低下が観察された。さらに炎症マーカーおよび炎症性サイトカインの発現誘導の抑制が示された。また、アディポサイトカインおよび脂肪細胞機能関連遺伝子の発現量においても違いは認められなかった。次いで、高脂肪食負荷した野生型マウスにダイオキシン受容体に対する拮抗薬を投与した結果、良好な耐糖能および脂肪組織における炎症関連遺伝子の発現減少が観察された。

研究成果の概要(英文)：Recent epidemiological studies revealed that dioxins are present in healthy individuals and the levels of those are positively associated with diabetes patients. Also, It has been reported that dioxins mainly accumulate in adipose tissue and cause the abnormality of adipocyte function, resulted in a risk factor of diabetes. In this study, we show that the Aryl hydrocarbon Receptor (AhR) in the adipose tissue is involved in the obese-related diabetes and inflammation. Adipocyte-specific AhR knockout (A-AhR KO) mice fed a high fat diet (HFD) show improved glucose tolerance and increased insulin sensitivity as compared to control mice. A rate of body weight gain and adipose tissue weight had little difference between A-AhR KO and control mice. The deficiency of AhR in adipose tissue resulted in the suppression of macrophage infiltration. These results suggest that AhR controls obesity-induced inflammation and lead to diabetes onset.

研究分野：衛生薬学

キーワード：ダイオキシン

1. 研究開始当初の背景

近年、欧米を中心にダイオキシン類の慢性毒性としての肥満と糖尿病が急激にクローズアップされている。

現在、我が国においてダイオキシン類の排出レベルは減少し、急性毒性が問題となる可能性は少ない。しかしながらダイオキシン類の生体内半減期が数年に渡ることを考えると、今後も慢性毒性に関して注視しなければならない。ヨーロッパでは環境汚染物質による肥満研究プロジェクト OBELIX が急遽立ち上がり、その学際的アプローチからダイオキシン類曝露が肥満ならびに糖尿病のリスクファクターであることが報告されている。またダイオキシン曝露者は健常人に比較して血糖値が 1.4 倍、糖尿病発症率は 2.3 倍、さらには血中インシュリン値でも 3.4 倍の高値を示し、ダイオキシン類曝露によるインスリン抵抗性の誘発が疫学的に示されている。

生体内に取込まれたダイオキシン類は、主に脂肪細胞に貯蔵される。脂肪細胞は、従来、過剰なエネルギーを貯蔵することを主目的とした受動的な細胞ととらえられていたが、近年、脂肪細胞が様々な生理活性物質を産生・分泌し、それらが各臓器の代謝調節を行うこと、さらにはそのバランスの乱れがインスリン抵抗性を誘発し、メタボリックシンドロームの発症につながる事が明らかとなった。

ダイオキシン類の毒性発現メカニズムに関する検討は主に肝臓、生殖細胞あるいは免疫担当細胞等を中心に発展しており、脂肪細胞に関しては、単にダイオキシン類の貯蔵に関わる細胞として認識されてきた。しかしながら脂肪細胞が内分泌細胞として機能を果たし、かつその機能のかく乱がメタボリックシンドロームの発症に関与することが明らかとなった現在、脂肪細胞におけるダイオキシン類の毒性ならびにそのメカニズムを明らかにすることは、ダイオキシン類の曝露による内分泌異常の分子機構を理解する上で重要な意味を持つ。そのような背景の下、本研究は、従来、疫学的には知られていた「ダイオキシン類の慢性毒性としての II 型糖尿病」発症の理解に分子基盤を与えるものである。

2. 研究の目的

ダイオキシン類は細胞内において、その特異的受容体 Ah レセプター(AhR)と結合して毒性の多くを発現する。そこで我々は、脂肪細胞における AhR の機能とそのダイオキシンの毒性発現への関与を明らかにする目的で脂肪細胞特異に AhR を欠損したマウス(adipoAhR KO マウス)を作製し、本マウスの病理的、病態生化学的ならびに分子生物学的な解析を通じて、インスリン抵抗性誘発に関連した脂肪細胞における AhR の機能を明らかにする。また脂肪組織の機能かく乱に伴う代謝性疾患の発症における AhR の関与を

明らかにする。さらにはこれらの知見を基に AhR アンタゴニストの糖尿病治療・改善薬としての可能性を試みる。

3. 研究の方法

adipoAhR KO マウスは、AhR flox マウスをアディポネクチンプロモーター下流に Cre リコンビナーゼを組み込んだマウスと交配することにより作製した。血液生化学検査は常法に従い測定した。遺伝子発現は RT-qPCR 法により測定した。

4. 研究成果

高脂肪食下で飼育した adipoAhR KO マウスは、コントロールマウスに比較して良好な耐糖能およびインスリン感受性の増加を示した。また、体重増加率ならびに精巣上体周囲および皮下脂肪組織重量に違いは認められなかった。さらに、組織切片を作製して病理学的解析を行ったところ、adipoAhR KO マウスの精巣上体周囲の脂肪組織においてマクロファージの浸潤低下が観察された。そこで、adipoAhR KO マウスの精巣上体脂肪組織における遺伝子発現量を検討したところ、肥満に伴う Mcp1, F4/80 などの炎症マーカーおよび TNF α , IL1 β , IL6 などの炎症性サイトカインの発現誘導の抑制が示された。一方、通常食飼育下ではこれらの差は認められなかった。また、アディポサイトカインおよび脂肪細胞機能関連遺伝子の発現量は、高脂肪食ならびに通常食のいずれにおいても両群間で違いは認められなかった。次いで、高脂肪食負荷した野生型マウスに AhR アンタゴニストを投与し、糖尿病に対する AhR 抑制作用の影響を検討した。その結果、アンタゴニスト投与群は、Vehicle 投与群に比較して良好な耐糖能および脂肪組織における炎症関連遺伝子の発現減少を示した。

これらの結果は、AhR が脂肪組織における炎症を惹起することで糖尿病発症に関与することを示している。

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 6 件)

Oikawa N, Nobushi Y, Wada T, Sonoda K, Okazaki Y, Tsutsumi S, Park YK, Kurokawa M, Shimba S, Yasukawa K. Inhibitory effects of compounds isolated from the dried branches and leaves of murta (*Myrceugenia euosma*) on lipid accumulation in 3T3-L1 cells. *J Nat Med*. 2016 Feb 15. [Epub ahead of print] 査読有

Wada T, Sunaga H, Miyata K, Shirasaki H, Uchiyama Y, Shimba S.

Aryl Hydrocarbon Receptor Plays Protective Roles against High Fat Diet (HFD)-induced Hepatic Steatosis and the Subsequent Lipotoxicity via Direct Transcriptional Regulation of Socs3 Gene Expression.
J Biol Chem. 2016 Mar 25;291(13):7004-16. doi: 10.1074/jbc.M115.693655. 査読有

Ando H, Ushijima K, Shimba S, Fujimura A.
Daily Fasting Blood Glucose Rhythm in Male Mice: A Role of the Circadian Clock in the Liver.
Endocrinology. 2016 Feb;157(2):463-9. doi: 10.1210/en.2015-1376. 査読有

榛葉繁紀 時計遺伝子と栄養・代謝
New Diet Therapy (日本臨床栄養協会)
30:53-57 (2015). 査読無

Ieyasu A, Tajima Y, Shimba S, Nakauchi H, Yamazaki S.
Clock gene Bmal1 is dispensable for intrinsic properties of murine hematopoietic stem cells.
J Negat Results Biomed. 2014 Mar 8;13:4. doi: 10.1186/1477-5751-13-4. 査読有

榛葉繁紀 生体リズム制御と肥満
循環 PLUS (メディカルトリビューン社)
14:10-12 (2014). 査読無

〔学会発表〕(計 17 件)

榛葉繁紀
時計遺伝子による代謝調節機構の解明とその毒性学への展開
(第42回日本毒性学会学術年会 平成27年6月29日 金沢市アートホール 石川・金沢)

関根孝弘、和田平、榛葉繁紀
時計遺伝子 BMAL1 は脂肪組織における脂質分解の制御を介して全身のエネルギー代謝を調節する
(日本薬学会第135年会 平成27年3月28日 神戸学院大学 兵庫・神戸)

榛葉繁紀
体内時計の制御不全に起因した生活習慣病発症に関する衛生薬学的研究
時計遺伝子による代謝調節機構の解明とその毒性学への展開
肝臓-脳-脂肪組織連関を介した時計遺伝子による血糖値制御
(日本薬学会第135年会 平成27年3月27日 神戸学院大学 兵庫・神戸)

和田平、笠倉由貴、榛葉繁紀
Ah (ダイオキシン) レセプターは脂肪組織における肥満依存性の炎症誘発を介して糖尿病発症に關与する
(日本薬学会第135年会 平成27年3月27日 神戸学院大学 兵庫・神戸)

榛葉繁紀、伊藤賢一、濱田朋志、Arunasiri Iddamalgoda
Regulation of ROS level by BMAL1, a core component of the molecular clock system, in the skin.
(日本皮膚科学学会 第39回学術大会 平成26年12月12日 ホテル阪急エキスポパーク 大阪・吹田)

和田平、笠倉由貴、榛葉繁紀
脂肪組織の Ah (ダイオキシン) レセプターは肥満に依存した糖尿病発症の原因分子である
(環境ホルモン学会 第17回研究発表会 平成26年12月9日 東京大学 東京・本郷)

Haruka Ozaki, Hikari Yoshitane, Hideki Terajima, Nagoc-Hien Du, Yutaka Suzuki, Taihei Fujimori, Naoki Kosaka, Shigeki Shimba, Sumio Sugano, Toshihisa Takagi, Yoshitaka, Fukada, Wataru Iwasaki
MOCCS, a bioinformatic method to enumerate DNA-binding motif from CHIP-Seq data
(第37回日本分子生物学会年会 平成26年11月25日 横浜パシフィコ 神奈川・横浜)

寺嶋秀騎、吉種光、尾崎遥、鈴木穰、榛葉繁紀、岩崎涉、深田吉孝
ゲノムワイドな CLOCK の標的探索により明らかにされたリズムミクな転写後制御の重要性
(第37回日本分子生物学会年会 平成26年11月25日 横浜パシフィコ 神奈川・横浜)

寺嶋秀騎、吉種光、尾崎遥、鈴木穰、榛葉繁紀、岩崎涉、深田吉孝
時計因子 CLOCK が生み出す転写リズムとリズムミクな転写後制御の重要性
(第21回日本時間生物学会学術大会 平成26年11月8日 九州大学医学部 百年講堂 福岡・福岡)

片宗千春、小柳悟、白水翔也、橋川健一、松永直哉、榛葉繁紀、柴田重信、大戸茂弘
細胞のがん化における時計遺伝子 Per3、Bmal1 の機能的差異
(第21回日本時間生物学会学術大会 平成26年11月8日 九州大学医学部 百

年講堂 福岡・福岡)

榎葉繁紀、和田平、澤村順哉、関根孝弘、鈴木麻里、内山武人、小菅康弘
BMAL1による脂肪組織の機能調節
(第21回日本時間生物学会学術大会 平成26年11月8日 九州大学医学部 百年講堂 福岡・福岡)

榎葉繁紀
脂肪組織におけるAh(ダイオキシン)レセプターは肥満依存性の糖尿病発症に關与する
(第35回日本肥満学会 平成26年10月24日 シーガイアコンベンションセンター 宮崎・宮崎)

榎葉繁紀
時計遺伝子と栄養・代謝
(第36回日本臨床栄養学会総会・第35回日本臨床栄養協会総会 平成26年10月5日 JPタワーホール&カンファレンス 東京・丸の内)

笠倉由貴、和田平、榎葉繁紀
Ah(ダイオキシン)レセプターは脂肪組織における肥満依存性の炎症誘発を介して糖尿病発症に關与する
(フォーラム 2014 衛生薬学・環境トキシコロジー 平成26年9月19日 つくば国際会議場 茨城・つくば)

吉田賢新、和田平、榎葉繁紀
体内時計による胆汁酸の解毒および排泄機構の調節
(フォーラム 2014 衛生薬学・環境トキシコロジー 平成26年9月19日 つくば国際会議場 茨城・つくば)

和田平、山下智鶴、中平裕基、戸田千里、鈴木一将、山田哲也、片桐秀樹、榎葉繁紀
体内時計による肝臓-脳-脂肪組織連関調節とエネルギー代謝
(第19回アディポサイエンスシンポジウム 平成26年8月23日 千里ライフサイエンスセンター 大阪・吹田)

和田平、笠倉由貴、榎葉繁紀
Ah(ダイオキシン)レセプターは脂肪組織における肥満依存性の炎症誘発を介して糖尿病発症に關与する
(第19回アディポサイエンスシンポジウム 平成26年8月23日 千里ライフサイエンスセンター 大阪・吹田)

〔図書〕(計 1 件)
榎葉繁紀 「時計遺伝子と生活習慣病の因果関係」p184-p191.
QOL 向上のための睡眠マネジメント 白川修一/高橋正也(監修)(医薬ジャーナル社)

(2014)

〔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
<http://www.pha.nihon-u.ac.jp/eisei.html>

6. 研究組織
(1)研究代表者
榎葉繁紀(SHIMBA, Shigeki)
日本大学・薬学部・教授
研究者番号：20287668

(2)研究分担者
()

研究者番号：

(3)連携研究者
()

研究者番号：