

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26870257

研究課題名(和文) GADD34遺伝子欠損が老化に伴う2型糖尿病や脂肪肝発生に及ぼす影響の解析

研究課題名(英文) Analysis of GADD34 deficiency effects on obesity-induced type 2 diabetes and fatty liver development with the aging

研究代表者

西尾 尚美 (NISHIO, Naomi)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号：80513457

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)：本研究では、GADD34遺伝子が老化に伴って発症する脂肪肝や2型糖尿病に及ぼす影響について、GADD34遺伝子欠損マウスを用いて検討した。その結果、GADD34遺伝子欠損マウスでは、細胞の増殖や老化に関係すると言われているIGF-1/Insulinレセプターシグナル伝達系が亢進することによって、加齢に伴って野生型マウスよりも肥満になり、脂肪肝を発症することが明らかとなった。さらに、増加した脂肪細胞から産生されるTNF- α が、IGF-1/Insulinレセプターシグナル伝達系を抑制することによって、インスリン抵抗性となり、2型糖尿病発症に至ることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this report, we analyzed the role of GADD34 gene on fatty liver and type 2 diabetes using GADD34-deficient mice. We found that GADD34-deficient mice developed the fatty liver and liver inflammation with aging. Then displayed liver damage, which could proceed to NAFLD/NASH with age, some mice extended for a cancer or type 2 diabetes. Furthermore GADD34 deficiency developed obesity by enhancement the adipocyte proliferation and differentiation. TNF- α produced by adipocytes inhibited IGF-1/Insulin signaling, then induced insulin resistance. This report concluded that Mechanism of fatty liver and type 2 diabetes in GADD34 KO mice may be mainly comes from the effect of GADD34 on insulin signaling which related to cell proliferation and aging. GADD34 suppress adipocyte differentiation by decreasing IGF-1/Insulin signaling and inhibited the fat accumulation.

研究分野：免疫学、基礎老化学

キーワード：GADD34 老化 脂肪肝 インスリンシグナル伝達系 炎症

(3) GADD34 KO マウスの発癌。

15 か月齢以上で、体重減少が見られた GADD34 KO マウスでは、肝炎、肝硬変、肝臓癌が認められた。

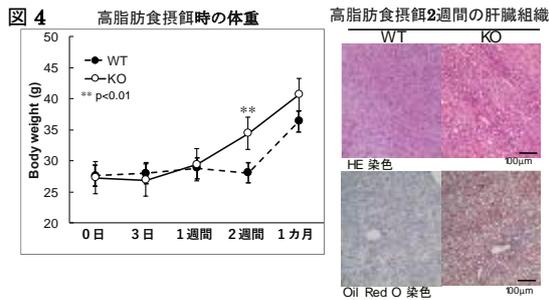


ここまでの研究結果から、上図に示すように、GADD34 は個体老化の過程で、肥満と炎症を抑制する可能性が示唆された。

そこで次に、肥満発症のメカニズム解明のために、高脂肪食を与えることで、強制的に肥満にした GADD34 KO マウスと WT マウスを比較検討した。

(4) 高脂肪食摂餌 GADD34 KO マウスの解析。

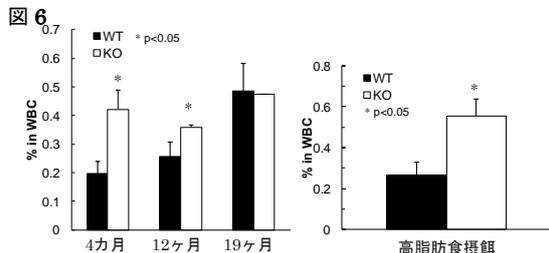
GADD34 KO マウスに高脂肪食を与えて解析を行った結果、体重増殖も著しく、わずか2週間で脂肪肝を発症した(図4)。また、普通食の時は KO マウスでインスリンシグナル伝達系が亢進していたが、高脂肪食摂餌によってインスリンシグナル伝達系の抑制が認められた。(図5)



(5) GADD34 KO マウスにおける脂肪増殖促進の解析。

インスリンシグナル伝達系は、脂肪細胞の増殖分化に働く重要なシグナルである。GADD34 KO マウスでは正常時にインスリンシグナル伝達系が亢進していたことから、マウスの骨髄内における、脂肪前駆細胞の解析を行った。

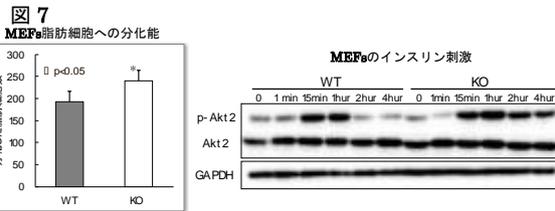
マウスの週齢ごと、あるいは高脂肪食摂餌時に比較検討をしたところ、加齢とともに、骨髄内の脂肪前駆細胞が WT マウスに比べて KO マウスで増加しており、高脂肪食摂餌時においても KO マウスでは増加が認められた(図6)。



(6) 脂肪細胞の分化増殖における GADD34 の役割の解析。

インスリンシグナル伝達系は、脂肪細胞の増殖分化に働く。また、MEFs は脂肪細胞への分化能を持つ。そこで GADD34 KO マウスと WT マウスから作成した MEFs を脂肪細胞に分化させて比較検討を行った。

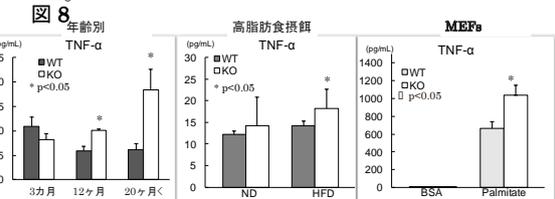
その結果、KO の MEFs ではインスリンシグナル伝達系が亢進しており、脂肪細胞への分化能も高かった(図7)。



このことから、GADD34 はインスリンシグナル伝達系を制御することによって、脂肪細胞の増殖分化を抑制し、個体の肥満を抑制している可能性が示唆された。

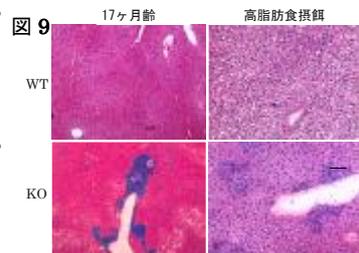
(7) GADD34 KO マウスにおけるインスリン抵抗性のメカニズムの解析。

蓄積された脂肪細胞はアディポカインを産生する。GADD34 KO マウスでは、老化マウス、高脂肪食摂餌マウスの両方において、アディポカインの1つである TNF α が血清中で増加していた。また、MEFs を脂肪酸で刺激した時にも、KO の MEFs では TNF α の産生が増加した(図8)。TNF α はインスリンシグナル伝達系を抑制するため、GADD34 KO マウスでは TNF α の産生が亢進し、肥満とともにインスリン抵抗性を示すことが明らかとなった。



(8) GADD34 KO マウスの炎症促進。

私は先行研究において、GADD34 は G-CSF レセプターの抑制を介して、ミエロ系細胞の増殖分化を抑制することで、炎症抑制に働いていることは報告している⁽¹⁾。そこで、本研究では、脂肪肝や脂肪組織での炎症についての検討を行ったところ、GADD34 KO マウスの肝臓では、老化や高脂肪食摂餌によって、ミエロ系細胞の浸潤による炎症が見られ(図9)、さらに、脂肪組織でも多くの脂肪細胞の浸潤が認められた。このことから GADD34 は肥満時に、肝臓や脂肪組織においても、炎症の抑制に関与していることが明らかとなった。



これらの研究結果から、GADD34 はインスリンシグナル伝達系の Akt2 の上流を抑制しており、GADD34 が欠損している若齢の KO マウスでは、インスリンシグナル伝達系が亢進する。そして加齢とともに、インスリン依存性に増殖分化する脂肪前駆細胞が活発に増殖分化し、脂肪細胞が増加する。その結果、脂肪が蓄積し、肥満になる。その後、脂肪細胞が産生する TNF α によって、インスリンシグナル伝達系が亢進していた KO マウスでは、逆にインスリンシグナル伝達系が抑制され、インスリン抵抗になる。また、GADD34 が炎症のシグナル伝達系を制御していることから、KO マウスでは、炎症性細胞の浸潤や炎症性サイトカインの産生が亢進しやすいため、加齢や高脂肪食摂餌によって、肝炎が発症し、肝硬変へと進行することが示唆された。

本研究においては、GADD34 KO マウスが肥満から II 型糖尿病を発症するメカニズムとして以上のようなことが明らかとなった。

従って、GADD34 はインスリンシグナル伝達系に関与していることが明らかとなり、このことは、GADD34 が炎症と老化という、老関連疾患にとって重要な 2 つのシグナル伝達系を同時に制御している可能性が示された。しかし、本研究においては、GADD34 がどの分子に作用しているのかを突き止めるには至らなかった。従って、今後さらに検討を進めていく必要があると考えられる。

<引用文献>

- (1) Nishio N, Ito S and Isobe K. Loss of GADD34 induces early age-dependent deviation to the myeloid lineage. *Immunol Cell Biol* 92, 170–180 (2014).
- (2) Lee D. F. *et al.* IKK beta suppression of TSC1 links in ammation and tumor angiogenesis via the mTOR pathway. *Cell* 130, 440–455 (2007).
- (3) Uysal K. T., *et al.* Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF-alpha function. *Nature* 389, 610–614 (1997).
- (4) Xu H. *et al.* Chronic in ammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest* 112, 1821–1830

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 17 件)

- ① Naomi Nishio and Ken-ichi Isobe. GADD34-deficient mice develop obesity, nonalcoholic fatty liver disease, hepatic carcinoma and insulin resistance. *Sci Rep.* 2015 Aug 28;5:13519. doi: 10.1038/srep13519. (査読有り)
- ② Lintao Liu, Sachiko Ito, Naomi Nishio, Yang Sun, Nana Chen, Yuriko Tanaka,, Ken-ichi Isobe. GADD34 Facilitates Cell Death Resulting from Proteasome

Inhibition. *Anticancer Res.* 2015 Oct;35(10):5317-24. (査読有り)

- ③ Naomi Nishio, Sachiko Ito and Ken-ichi Isobe. Loss of GADD34 induces early age-dependent deviation to the myeloid lineage. *Immunol Cell Biol.* 2014 Feb;92(2):170-80. doi: 10.1038/icb.2013.78. (査読有り)

[学会発表] (計 13 件)

- ① 西尾尚美. GADD34 works to suppress obesity-induced Metabolic Diseases including type 2 diabetes and NASH-2. 第 86 回日本衛生学会総会. 平成 28 年 5 月 11～13 日. 旭川文化会館 (北海道旭川市)
- ② Naomi Nishio. GADD34 works to suppress obesity and fatty acid-induced insulin resistance. International Conference of Functional and Medical Foods, Bioactive Compounds and Biomarkers: Longevity and Quality of Life. 平成 27 年 11 月 17～18 日. 神戸大学 (兵庫県神戸市)
- ③ 西尾尚美. GADD34 は肥満によって誘導されるタイプ II 糖尿病や非アルコール性脂肪性肝炎を抑制する. 第 38 回日本基礎老化学会大会. 平成 27 年 6 月 12～14 日. パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)
- ④ Naimo Nishio. GADD34 works to suppress obesity-induced nonalcoholic steatohepatitis (NASH) by regulation of insulin/IGF signaling and immunosenescence. 第 43 回日本免疫学会学術総会 平成 26 年 12 月 10～12 日. 国立京都国際会館 (京都市左京区)
- ⑤ Naimo Nishio. GADD34 works to suppress obesity-induced metabolic diseases including type 2 diabetes and NASH. 第 37 回日本基礎老化学会大会. 平成 26 年 6 月 26～27 日. 愛知健康プラザ (愛知県知多郡)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西尾 尚美 (NISHIO Naomi)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員
研究者番号 : 80513457