

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：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26870409

研究課題名(和文)低酸素誘導因子による脂肪細胞の脂質代謝変化がグルカゴン様ペプチド分泌に及ぼす影響

研究課題名(英文)The effects of lipid metabolism alteration induced by hypoxia-inducible factor on glucagon-like peptide secretion

研究代表者

木平 孝高(KIHIRA, Yoshitaka)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部・助教

研究者番号：90377276

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：低酸素誘導因子(HIF-1)欠損マウスの脂肪組織においてLipin1の発現が低下していることを見出した。Lipin1は、脂肪の分化に関わるとの報告があるため、HIF-1阻害剤を添加した際の脂肪分化への影響を解析した。その結果、HIF-1阻害剤により分化効率が上昇することが明らかとなった。また、この時、脂肪細胞において善玉アディポカインとして知られるアディポネクチンが高発現することを見出した。これらのことから、HIF-1によるLipin1制御が脂肪の分化に重要であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We found that Lipin1 expression is reduced in adipocytes in hypoxia-inducible factor (HIF)-1a knockout mice (ahKO). Although Lipin1 mediates triglyceride synthesis, serum concentrations of triglyceride, free fatty acid, and cholesterol were not altered in ahKO. It is known that Lipin1 regulates differentiation of adipocytes as well. Therefore, we studied that the effects of an inhibitor of HIF-1a on adipocyte differentiation. The results showed that the inhibitor enhances adipocyte differentiation. In addition, the adipocytes differentiated with HIF-1a inhibitor showed increased expression of adiponectin. The present study indicates regulation of Lipin1 by HIF-1a is involved in differentiation of adipocytes.

研究分野：薬理学

キーワード：hypoxia obesity adipocyte hypoxia-inducible factor lipid

1. 研究開始当初の背景

脂肪組織は、肥満により肥大化すると低酸素となることが知られている。このとき、脂肪細胞において低酸素誘導因子(HIF-1)が発現することから、HIF-1が糖尿病発症に寄与することが考えられる。申請者は、脂肪細胞特異的 HIF-1 欠損 (ahKO) マウスを用いて、HIF-1 の糖尿病発症に対する役割を解析している。その研究過程において、ahKO マウスは、グルカゴン様ペプチド 1 (GLP-1) の発現上昇に起因した耐糖能改善を示すことを明らかとした。また、マイクロアレイを用いた解析から、脂肪細胞特異的 HIF-1 欠損マウスの脂肪組織において、トリグリセリド合成に関する遺伝子群が発現低下していることを見いだした。

2. 研究の目的

本研究は、マイクロアレイ解析により見出された ahKO マウスにおいて発現低下しているトリグリセリド合成に関わる遺伝子群と HIF-1 の関係を明らかとし、脂肪細胞の HIF-1 の肥満・糖尿病に関する役割について解析を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

ahKO マウスに高脂肪食を負荷し、肥満を誘発した。肥満 ahKO マウスの脂肪組織において、トリグリセリド合成に関わる遺伝子群が発現低下していることをウエスタンブロット法を用いて解析した。また、ahKO マウスの血清中のトリグリセリド、コレステロール、遊離脂肪酸を測定し、脂質代謝変化を解析した。

次に、3T3-L1 脂肪細胞を用いて、HIF-1 の活性化剤および阻害剤を処理した際の、脂肪細胞に与える影響を、ウエスタンブロット法を用いて解析した。また、3T3-L1 細胞の脂肪細胞への分化に対する、HIF-1 活性化剤および阻害剤の影響を解析した。

4. 研究成果

ahKO マウスと野生型マウスの精巢上体脂肪組織を用いたマイクロアレイにより得られた、ahKO マウスにおいて発現低下している脂質代謝関連遺伝子について、ahKO の精巢上体における発現をウエスタンブロット法を用いて解析した。その結果、Lipin1 タンパク質の発現が ahKO マウスにおいて有意に低下していることが明らかとなった。Lipin1 は、脂質代謝に関連する因子として知られているが、ahKO マウスのトリグリセリド、遊離脂肪酸およびコレステロールの血中濃度を測定した結果、これらには変化がなかった。Lipin1 は、脂肪の分化にも関わるとの報告があるため、HIF-1 阻害剤を添加した際の脂肪分化への影響を解析した。その結果、Lipin1 の発現は、HIF-1 の発現変化に応じ変化すること、HIF-1 阻害剤により分化効率が上昇することが明らかとなった。また、

この時、脂肪細胞において善玉アディポカインとして知られるアディポネクチンが高発現することを見出した。これらのことから、HIF-1 による Lipin1 制御は、脂質代謝ではなく脂肪の分化に重要であることが示唆された。アディポネクチンを GLP-1 分泌細胞 GLUTag に添加すると GLP-1 が分泌促進されることから、HIF-1 を阻害することにより、アディポネクチンを高発現する脂肪細胞が産生されることが、GLP-1 の分泌促進作用をもたらし、全身の耐糖能の上昇につながると考えられる。

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 7 件)

Ikeda Y, Imao M, Satoh A, Watanabe H, Hamano H, Horinouchi Y, Izawa-Ishizawa Y, Kihira Y, Miyamoto L, Ishizawa K, Tsuchiya K, Tamaki T. Iron-induced skeletal muscle atrophy involves an Akt-forkhead box O3-E3 ubiquitin ligase-dependent pathway. *J Trace Elem Med Biol.* 2016;35:66-76. 査読あり doi: 10.1016/j.jtemb.2016.01.011.

Ikeda Y, Horinouchi Y, Izawa-Ishizawa Y, Kihira Y, Ishizawa K, Aihara K, Tsuchiya K, Tamaki T. Bilirubin exerts pro-angiogenic effects through an Akt-eNOS-dependent pathway. *Hypertens Res.* 2015;38(11):733-740. 査読あり doi: 10.1038/hr.2015.74.

Kihira Y, Burentogtokh A, Itoh M, Izawa-Ishizawa Y, Ishizawa K, Ikeda Y, Tsuchiya K, Tamaki T. Hypoxia Decreases Glucagon-Like Peptide-1 Secretion from the GLUTag Cell Line. *Biol Pharm Bull.* 2015;38(4):514-521. 査読あり doi: 10.1248/bpb.b14-00612.

Yamano N, Ikeda Y, Sakama M, Izawa-Ishizawa Y, Kihira Y, Ishizawa K, Miyamoto L, Tomita S, Tsuchiya K, Tamaki T. A Long-Term High-Fat Diet Changes Iron Distribution in Body, Increasing Iron Accumulation Specifically in the Mouse Spleen. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 2015;61(1):20-27. 査読あり doi: 10.3177/jnsv.61.20.

Tajima S, Ikeda Y, Enomoto H, Imao M, Horinouchi Y, Izawa-Ishizawa Y, Kihira Y, Miyamoto L, Ishizawa K, Tsuchiya K, Tamaki T. Angiotensin II alters the expression of duodenal iron

transporters, hepatic hepcidin, and body iron distribution in mice. *Eur J Nutr.* 2015;54(5):709-719. 査読あり doi: 10.1007/s00394-014-0749-1.

Morimoto A, Tomita S, Imanishi M, Shioi G, **Kihira Y**, Izawa-Ishizawa Y, Takaku M, Hashimoto I, Ikeda Y, Nakanishi H, Tamaki T. Overexpressed HIF-2 in Endothelial Cells Promotes Vascularization and Improves Random Pattern Skin Flap Survival. *Plast Reconstr Surg Glob Open.* 2014;2(4):e132. 査読あり doi: 10.1097/GOX.0000000000000083.

Kihira Y, Miyake M, Hirata M, Hoshina Y, Kato K, Shirakawa H, Sakaue H, Yamano N, Izawa-Ishizawa Y, Ishizawa K, Ikeda Y, Tsuchiya K, Tamaki T, Tomita S. Deletion of hypoxia-inducible factor-1 in adipocytes enhances glucagon-like Peptide-1 secretion and reduces adipose tissue inflammation. *PLoS One.* 2014;9(4):e93856. 査読あり doi: 10.1371/journal.pone.0093856.

〔学会発表〕(計 20 件)

岸淵麗奈、**木平孝高**、山口邦久、石澤有紀、池田康将、石澤啓介、富田修平、土屋浩一郎、玉置俊晃. HIF-1a はアポトーシス制御因子 Bcl-2 及び CHAC1 の発現制御を介して腎虚血再灌流障害からの回復に関与する. 第 89 回日本薬理学会年会. 2016/3/9-11. パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

太田和馬、**木平孝高**、岸淵麗奈、石澤有紀、池田康将、石澤啓介、土屋浩一郎、富田修平、玉置俊晃. 電位依存性カリウムチャンネル Kv2.2 は腎虚血再灌流障害の軽減に関与する. 第 89 回日本薬理学会年会. 2016/3/9-11. パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

斎藤尚子、石澤有紀、石澤啓介、戸谷紘基、今西正樹、鍵本優有、細岡真由子、**木平孝高**、池田康将、土屋浩一郎、玉置俊晃. 大動脈解離発症における内皮障害の関与. 第 25 回日本循環薬理学会. 2015/12/4. 東大寺総合文化センター金鐘ホール(奈良県・奈良市)

石澤有紀、石澤啓介、高田真衣、田淵正樹、今西正樹、**木平孝高**、池田康将、土屋浩一郎、玉置俊晃. ニトロソニフェジピンは悪性脳卒中易発性高血圧自然発症ラットの生命予後を改善する. 第 25 回日本循環薬理学会. 2015/12/4. 東大寺

総合文化センター金鐘ホール(奈良県・奈良市)

池田康将、濱野裕章、渡邊大晃、堀ノ内裕也、石澤有紀、**木平孝高**、石澤啓介、土屋浩一郎、玉置俊晃. 慢性腎臓病におけるヘプシジン制御メカニズムの検討. 第 25 回日本循環薬理学会. 2015/12/4. 東大寺総合文化センター金鐘ホール(奈良県・奈良市)口演

Ikeda Y, Hamano H, Horinouchi Y, Izawa-Ishizawa Y, **Kihira Y**, Ishizawa K, Tsuchiya K, Tamaki T. Bilirubin Enhances Ischemia-induced Angiogenesis Through Akt-eNOS-Dependent Signaling Pathway American Heart Association Scientific Sessions 2015. 2015/11/7-11. Orlando, Florida (USA)

戸谷紘基、石澤啓介、石澤有紀、細岡真由子、鍵本優有、斎藤尚子、宮本理人、**木平孝高**、池田康将、玉置俊晃、土屋浩一郎. 大動脈解離発症における内皮障害の関与の検討. 第 54 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会 中国四国支部学術大会. 2015/10/31-11/1. 高知市文化プラザ かるぼーと(高知県・高知市)

高田真衣、石澤啓介、田淵正樹、石澤有紀、宮本理人、**木平孝高**、池田康将、玉置俊晃、土屋浩一郎. 悪性脳卒中易発性高血圧自然発症ラットの神経症状に対するニトロソニフェジピンの効果. 第 54 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会 中国四国支部学術大会. 2015/10/31-11/1. 高知市文化プラザ かるぼーと(高知県・高知市)

今尾瑞季、池田康将、佐藤明穂、濱野裕章、堀ノ内裕也、宮本理人、**木平孝高**、石澤有紀、石澤啓介、玉置俊晃、土屋浩一郎. 鉄蓄積によって引き起こされる骨格筋萎縮のメカニズム. 第 54 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会 中国四国支部学術大会. 2015/10/31-11/1. 高知市文化プラザ かるぼーと(高知県・高知市)

Ariunzaya B, **木平孝高**、石澤有紀、池田康将、土屋浩一郎、玉置俊晃. YC1 increased adiponectin expression in 3T3-L1 adipocytes. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2015. 2015/8/29. 東京大学(東京都・文京区)

池田康将、佐藤明穂、堀ノ内裕也、石澤有紀、**木平孝高**、石澤啓介、土屋浩一郎、

玉置俊晃. 鉄欠乏は骨格筋量減少の原因となる. 第 39 回日本鉄バイオサイエンス学会学術集会. 2015/8/29-30. 岡山コンベンションセンター(岡山県・岡山市)

石澤有紀、石澤啓介、大越瑞穂、土肥紗希子、**木平孝高**、池田康将、玉置俊晃. 血管石灰化シグナルにおける Rho キナーゼおよびサイクロフィリン A の関与. 第 47 回日本動脈硬化学会総会・学術集会. 2015/7/9-10. 仙台国際センター(宮城県・仙台市)

Izawa-Ishizawa Y, Ishizawa K, Toya H, **Kihira Y**, Ikeda Y, Tsuchiya K, Tamaki T. Novel aortic dissection model by pharmacologically-induced endothelial dysfunction. ISA2015 7th International Symposium on Atherosclerosis. 2015/5/23-26. Amsterdam (Netherlands)

Ikeda Y, Kanai Y, Horinouchi Y, Izawa-Ishizawa Y, **Kihira Y**, Miyamoto L, Ishizawa K, Tsuchiya K, Tamaki T. Bilirubin Promotes Ischemic-Induced Revascularization through Akt-eNOS Pathway. 第 79 回日本循環器学会学術集会. 2015/4/24-26. 大阪国際会議場(大阪府・大阪市)

木平孝高、岸瀧麗奈、山口邦久、石澤有紀、池田康将、石澤啓介、富田修平、土屋浩一郎、玉置俊晃. 腎虚血再灌流障害において低酸素誘導因子が制御する因子の探索. 日本薬学会第 135 回年会. 2015/3/25-28. 神戸学院大学、兵庫医療大学(兵庫県・神戸市)

Ariunzaya B, **Kihira Y**, Izawa-Ishizawa Y, Ikeda Y, Tsuchiya K, Tamaki T. Hypoxia decreases glucagon-like peptide-1 secretion from glutag cell lines. 第 88 回 日本薬理学会年会. 2015/3/18-20. 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)

岸瀧 麗奈, **木平 孝高**, 山口 邦久, 石澤 有紀, 石澤 啓介, 池田 康将, 富田 修平, 土屋 浩一郎, 玉置 俊晃. 低酸素誘導因子-1 は腎虚血再灌流障害においてアポトーシスの誘導に関与する. 第 88 回 日本薬理学会年会. 2015/3/18-20. 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)

木平孝高、石澤有紀、池田康将、土屋浩一郎、玉置俊晃、富田修平. 高脂肪食誘発肥満に対する脂肪特異的低酸素誘導因子欠損の影響. 第 36 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム. 2014/11/20-21.

徳島大学大塚講堂(徳島県・徳島市)

岸瀧麗奈、**木平孝高**、山口邦久、石澤有紀、池田康将、富田修平、土屋浩一郎、玉置俊晃. 低酸素誘導因子の機能不全は腎虚血再灌流障害からの回復を阻害する. 第 36 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム. 2014/11/20-21. 徳島大学大塚講堂(徳島県・徳島市)

岸瀧麗奈、**木平孝高**、山口邦久、石澤有紀、池田康将、富田修平、土屋浩一郎、玉置俊晃. 低酸素誘導因子の腎虚血再灌流障害に対する役割. 第 126 回日本薬理学会近畿部会. 2014/10/24. 和歌山県 JA ビル(和歌山県・和歌山市)

[その他]

ホームページ等

徳島大学大学院医歯薬学研究部薬理学分野ホームページ

<http://www.tuyakuri.umin.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木平 孝高 (KIHIRA, Yoshitaka)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部・助教

研究者番号：90377276