

## 山梨県若手研究者奨励事業 研究成果概要書

所属機関名	山梨大学大学院総合研究部医学域
職名・氏名	助教 大熊 英之 ⑩

## 1 研究テーマ

脂肪細胞の微小管捕捉因子を介した糖脂質代謝制御機構の解明

## 2 研究の目的

これまで、遺伝子工学的手法により臓器選択的なインスリン(Ins)作用の制御が試みられてきた。特に、肝臓よりも脂肪細胞優位に Ins 作用を高めることにより、肝臓への脂肪蓄積を促進することなく肥満に伴う糖脂質代謝異常の改善に寄与する可能性が報告されている。この点から、肝臓より脂肪組織において強く発現する Ins シグナル構成分子を制御対象とするアプローチが考えられるが、現状ではそのような報告はない。申請者らは、発現データベースを用いた比較より、肝臓や骨格筋には低発現であるが脂肪組織において発現が顕著である pleckstrin homology-like domain family B member 1 (PHLDB1) に着目した。微小管捕捉因子として知られる PHLDB1 は、微小管の位置決定に関与する一方、Ins 依存的に Ins シグナル活性を増幅する因子でもある。本研究課題では、個体レベルでの PHLDB1 の制御が糖脂質代謝に及ぼす影響を、脂肪組織とその他の臓器における Ins 作用の差異の観点から明らかにすることを目的とする。

## 3 研究の方法

①個体レベルにおける PHLDB1 の制御が糖脂質代謝に及ぼす影響を、臓器単位における Ins 作用の差異の観点から明らかにする。

a) PHLDB1 の臓器発現パターンおよび肥満における発現変化の検討

野生型マウスにおいて PHLDB1 蛋白の各臓器における発現分布を解析した。また、高脂肪食誘導性肥満マウスの脂肪組織における PHLDB1 の蛋白発現レベルを非肥満対照マウスと比較した。

b) PHLDB1 遺伝子改変マウスの解析

連携研究者より以下の PHLDB1 遺伝子改変マウスの分与を受け、解析を行った。

i) R26-TagRFP-T-PHLDB1 マウス (ROSA26 遺伝子座へ PHLDB1 をノックインしたマウス＝「全身性 PHLDB1 ノックインマウス」)

ii) Adipoq-Cre: R26R-TagRFP-T-PHLDB1 マウス (脂肪細胞特異的 PHLDB1 ノックインマウス)

これらのマウスを、野生型マウスを対照として高脂肪食により飼育し、耐糖能 (ブドウ糖

### 留意事項

① 3 枚程度で作成してください。

② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。

および Ins 負荷試験等)、血清糖脂質パラメータの解析に加えて、脂肪細胞の組織学的解析(脂肪細胞径、炎症細胞浸潤等)、遺伝子発現解析(炎症性遺伝子等)、Ins シグナル解析等を施行した。i) および ii) のマウスにより、個体レベルの PHLDB1 発現調節が、脂肪組織選択的な Ins 作用の変化を伴って糖脂質代謝の改善に寄与するか、そして脂肪細胞の PHLDB1 の発現変化が個体レベルの糖脂質代謝を調節し得るかを検証することとした。

#### 4 研究の成果

##### 【野生型マウスにおける PHLDB1 発現分布・及びその制御】

野生型マウスにおいて、PHLDB1 は白色・褐色脂肪組織に高発現し、骨格筋・肝臓では低発現であった。高脂肪食給餌野生型マウスは、対照の非肥満マウスと比較して脂肪組織の PHLDB1 発現が低下していた。この機序を検討するため、肥満マウスの脂肪細胞を 3T3-L1 脂肪細胞を用いて再現した。具体的には、肥満マウスの脂肪組織で惹起されるとされる小胞体ストレス・低酸素を 3T3-L1 脂肪細胞に誘導した。3T3-L1 細胞への小胞体ストレス誘導剤 thapsigargin 添加、低酸素環境下での培養はいずれも PHLDB1 の発現を有意に抑制した。この結果から、肥満マウスの脂肪組織における PHLDB1 発現は小胞体ストレス・低酸素により抑制されることが示唆された。

##### 【全身 PHLDB1 ノックイン(KI)マウス・脂肪細胞特異的 PHLDB1 KI マウスの解析】

高脂肪食給餌全身 KI マウスは、対照マウスと比較して体重非依存的に耐糖能および Ins 抵抗性が改善し、血中遊離脂肪酸の低下、脂肪組織重量・脂肪細胞面積の増加、脂肪組織の炎症関連遺伝子の発現低下を認め、脂肪組織における Ins 依存的 Akt リン酸化の亢進および肝臓脂肪蓄積の減少を認めた。さらに、脂肪細胞特異的 PHLDB1 KI マウスを作製し、高脂肪食を給餌すると、対照マウスと比較した表現型は全身 KI マウスと同様であった。

##### 【KI マウスにおける Healthy adipose expansion の機序についての検討】

これら 2 種類の PHLDB1 KI マウスで認めた、脂肪組織炎症の軽減を伴った脂肪細胞の肥大化は、”Healthy adipose expansion” と称されており、その機序として、脂肪組織における①Ins シグナル活性化(Nat Commun 2015)、②糖取り込みの促進(J Biol Chem 1993)、③酸化ストレス抑制による SREBP1 発現亢進(Diabetes 2018)、④コラーゲンVIの欠損(Mol Cell Biol 2009)などが報告されている。3T3-L1 脂肪細胞を用いて検討したところ、PHLDB1 は Ins 依存的な AKT リン酸化と糖取り込みを促進することが分かった。

##### 【結果のまとめ】

肥満に伴う脂肪組織の小胞体ストレスおよび低酸素状態は、PHLDB1 の発現を低下させることが分かった。肥満個体において PHLDB1 発現を増強することにより、脂肪組織選択的な Ins シグナルの活性化、糖取り込みの促進を介して Healthy adipose expansion が誘導され、肥満関連代謝障害の改善につながることを示唆された。

#### 留意事項

- ① 3 枚程度で作成してください。
- ② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。

## 5 今後の展望

PHLDB1 は肥満合併症治療薬の標的分子となる可能性がある。また、本研究のように標的とする病態に関連する分子の臓器間発現差異に着目したアプローチは、薬理学的手法による臓器選択的な分子制御を見据えた際に有用である可能性があり、今後は従来の drug delivery system 的アプローチに加えて、新たな Ins シグナルの臓器選択的な活性化手法の開拓を目指している。

## 6 研究成果の発信方法（予定を含む）

これまでに得られた結果の機序まで解明することができた際には、国際論文を発表し世界へ発信する予定である。また、これまで日本肥満学会（若手研究奨励賞）、日本糖尿病合併症学会（若手優秀演題賞）、日本糖尿病肥満動物学会（若手研究奨励賞）、アディポサイエンスシンポジウム（若手優秀研究奨励賞）において演題発表を行い、研究内容が評価され、各括弧内の賞を受賞した。今後は、日本内分泌学会学術集会など、複数の学会において演題発表を行う予定であり、さらに研究内容をブラッシュアップしていきたいと考えている。さらに国際論文が受理された際にはプレスリリースとして発信する。また新型コロナウイルスの感染状況を考慮し、山梨県民の方々へ向けた聴講会を検討する。

## 留意事項

- ① 3枚程度で作成してください。
- ② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。