

149. 遺伝子転写因子 CRTCI 欠損による糖尿病発症機構の解明

松村 成暢

京都大学 大学院農学研究科 食品生物科学専攻 栄養化学分野

Key words : 転写因子, 高脂肪食, 糖尿病, CREB, cAMP

緒言

世界的に見ても糖尿病患者の増加は著しい。現在は先進国ほど患者数が多いが、糖尿病患者数の増加率は発展途上国ほど多いことから今後爆発的に増加すると予想される。

糖尿病の主な発症原因は加齢、肥満、遺伝とされている。欧米では肥満が糖尿病の主な原因であることから肥満と糖尿病に関連する研究は進んでいる。一方で肥満以外の他の因子による糖尿病発症機構はいまだ不明な点が多い。特に我々日本人を含むアジア人は肥満が顕著でないにも関わらず糖尿病発症率が高く、このような肥満以外の糖尿病誘発機構の解明が求められている。

CRTC1 (CREB regulated transcript co-activator-1) は細胞内 cAMP 濃度に応じて転写を制御する CREB の coactivator である¹⁾。CRTC1 は脳において多く発現がみられ、神経の分化や保護、記憶の形成などにおいて重要な役割をしていると報告されている²⁾。CRTC1 を欠損するマウスは通常食では軽度の肥満を呈するが³⁾高脂肪食にすると重度の糖尿病となることが近年明らかとなった。さらに高脂肪食を与えた場合、体重の増加率は野生型と同程度であったことから肥満に依存しない糖尿病であると推察されている。当研究では高脂肪食により重度の糖尿病を発症する遺伝子改変マウス (CRTC1 欠損マウス) を用いて、これまでに知られていない糖尿病発症機構の解明を行った。

方法および結果

本研究は京都大学動物実験委員会および組換え DNA 実験安全委員会に本申請研究に該当する計画を申請し、審査を受け、倫理的に問題が無いことの承認を受けた上で、適切な設備のある実験施設において実験を行った。CRTC1 欠損マウスは米国 Salk Institute の Marc Montminy 教授より寄贈されたものを京都大学にて繁殖を行った。

CRTC1 欠損マウスに高脂肪食を与えると 4 週目以降に血糖値の上昇が観察された (図 1A)。血中インシュリン値は高脂肪食開始 2 週間後には顕著な上昇がみられた (図 1B)。これは高脂肪食が CRTC1 欠損マウスに対してごく短期間でインシュリン抵抗性を惹起し、さらに膵臓のインシュリン分泌不全を引き起こしたためだと考えられる。

次にインシュリン耐性試験を行ったところ、高脂肪食摂取開始一週間後には重度のインシュリン抵抗性が見られることが明らかとなった (図 1C)。

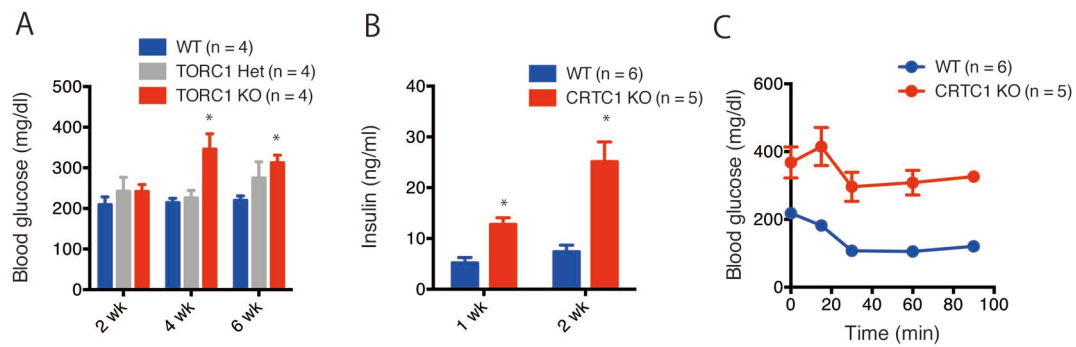


図1. 高脂肪食摂取は CRTCL1 欠損マウスに糖尿病を引き起こす

(A) 高脂肪食摂取による血糖値の変化。Error bar: SE, Asterisk: $P < 0.05$ (one-way ANOVA with Bonferroni test). (B) 高脂肪食摂取による血中インシュリン値の変化。Error bar: SE, Asterisk: $P < 0.05$ (one-way ANOVA with Bonferroni test). (C) インシュリン負荷試験。マウスにインシュリン 1 U/kg を投与し血糖値の変化を測定した。

CRTCL1 欠損マウスの臓器重量を計測したところ、肝臓の顕著な肥大がみられた。さらに組織学的解析により、肝臓の脂肪含量が増大していることが明らかとなった (図2)。

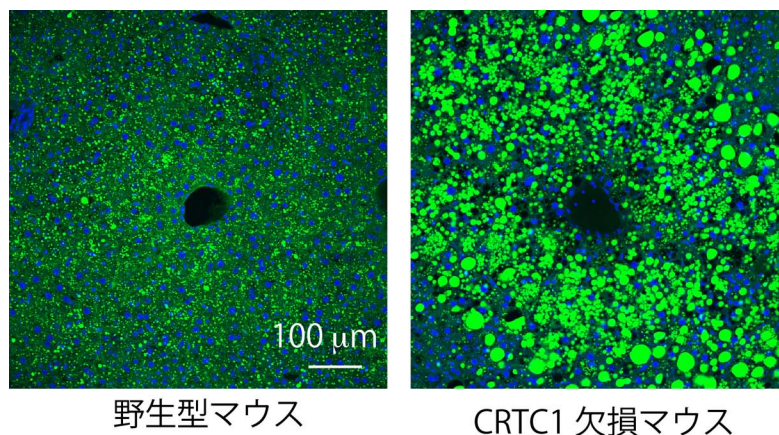


図2. 高脂肪食摂取は CRTCL1 欠損マウスにおいて脂肪肝を引き起こす

野生型および CRTCL1 欠損マウスの肝臓組織切片。高脂肪食摂取 6 週間後に肝臓を採取し、切片を作製した。細胞核を DAPI で青色に組織中脂肪滴を BODIPY で緑色に染色した。

そこで肝臓の糖代謝に関連する遺伝子を検討したが予想に反して全く野生型と変化がみられず、且つ、脂肪合成に関する酵素の発現も変化がみられなかった (data not shown)。この結果は CRTCL1 欠損マウスに見られる脂肪肝は肝臓の遺伝子発現変化によるものではなく、肝臓以外の臓器不全による受動的なものと推察される。

また、興味深いことに副精巣周囲脂肪の萎縮が観察された (図3)。



図 3. 高脂肪食摂取 6 週間後の副精巣周囲脂肪組織
左が野生型、右が CRTC1 欠損マウスより採取した副精巣周囲脂肪組織。

このとき、皮下脂肪の一つである鼠蹊部脂肪、内臓脂肪である腎臓周囲脂肪、腸間膜脂肪は野生型と比較して同程度もしくはわずかな肥大がみられたのみであった。脂肪組織の組織学的解析をおこなったところ、副精巣周囲脂肪のみ顕著なマクロファージの浸潤がみられた (図 4)。

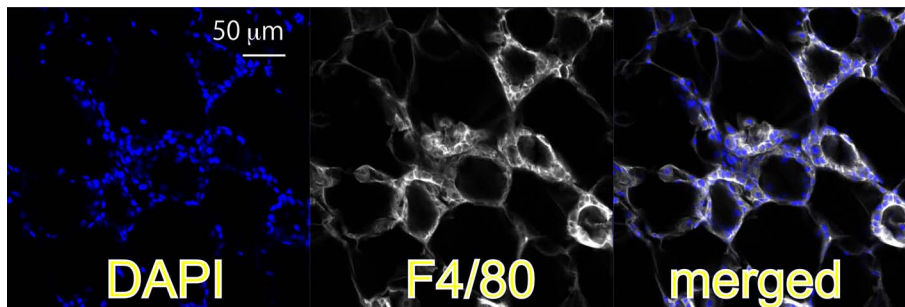


図 4. 高脂肪食摂取 6 週間後の副精巣周囲脂肪組織切片
副精巣周囲脂肪組織より切片を作製し、マクロファージマーカーのひとつである F4/80 を免疫染色した。白色: F4/80 陽性細胞。青色: 細胞核。

さらに多数の crown like structure が観察された。これは脂肪細胞が壊死した場所にマクロファージが集積するという現象であり、脂肪組織における炎症反応の一つである。

上記の結果より、CRTC1 欠損マウスに見られる糖尿病は副精巣周囲脂肪組織を起点としており、CRTC1 はこの組織の遺伝子発現を調節していると推察された。そこで実際に副精巣脂肪組織に CRTC1 が発現しているのかを検討した。野生型マウスに高脂肪食を与え、副精巣脂肪組織を採取し、CRTC1 タンパク含量を western blotting により検討した。CRTC1 タンパクが副精巣周囲脂肪組織に強く発現していることがはじめて明らかとなった。さらに高脂肪食摂取により CRTC1 タンパク発現の増加がみられた。わずかであるが、活性型 CRTC1 の増加が観察された (図 5)。

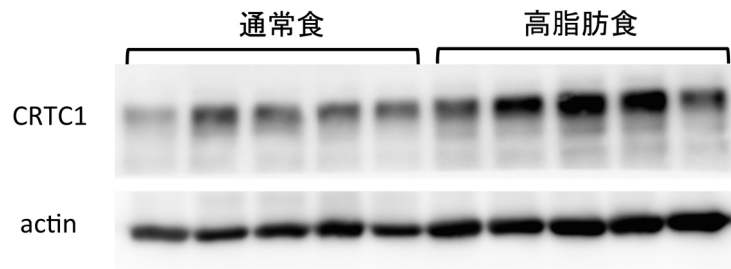


図 5. 高脂肪食は副精巣周囲脂肪組織において CRTC1 発現を誘導する
CRTC1 抗体を用いた western blotting。サンプルは高脂肪食を 6 週間摂取させたマウスの副精巣周囲脂肪を用い、ポジティブコントロールには actin に対する抗体を用いた。

考 察

CRTC1 が副精巣周囲脂肪に発現し、高脂肪食により発現誘導されることが明らかとなった。また、CRTC1 欠損マウスでは高脂肪食により副精巣周囲脂肪で非常に強い炎症反応が引き起こされ、脂肪細胞の壊死が確認された。脂肪組織の炎症は全身性のインシュリン抵抗性を誘導し、脂肪肝を引き起こしていると推測される。つまり、CRTC1 は脂肪組織の過度な炎症を抑制する役割を担っていると考えられる。今後、CRTC1 による炎症抑制機構の解明が必要である。

共同研究者

本研究の共同研究者は大阪大学医学研究科の佐々木勉である。本稿を終えるにあたり、本研究をご支援いただきました上原記念生命科学財団に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) Altarejos JY, Montminy M. CREB and the CRTC co-activators: sensors for hormonal and metabolic signals. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2011 Mar;12(3):141-51. PMID: 21346730
- 2) Xue ZC, Wang C, Wang QW, Zhang JF. CREB-regulated transcription coactivator 1: important roles in neurodegenerative disorders. *Sheng Li Xue Bao.* 2015 Apr 25;67(2):155-62. Review. PMID: 25896045
- 3) Altarejos JY, Goebel N, Conkright MD, Inoue H, Xie J, Arias CM, Sawchenko PE, Montminy M. The Creb1 coactivator Crtc1 is required for energy balance and fertility. *Nat Med.* 2008 Oct;14(10):1112-7. doi: 10.1038/nm.1866. PMID: 18758446