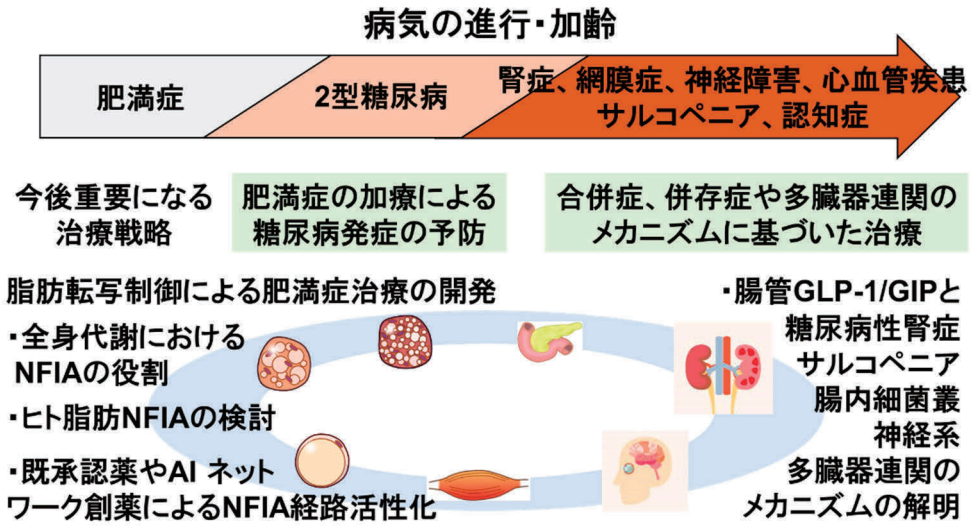
| 93　褐色脂肪とインクレチンの多臓器連関と糖尿病治療戦略 | 脇　裕典 |
|---|---|

**【目的】**脂肪細胞における褐色脂肪遺伝子の転写プログラムの制御因子として同定した NFIA の遺伝子改変マウスの表現型の解析で、この因子が全身の糖・脂質・エネルギー代謝に大きな役割を果たすことが示唆された。腸管インクレチンである GIP 受容体や GLP-1 受容体は脂肪細胞や腎臓にも発現しており、それぞれの欠損マウスは高脂肪食負荷に抵抗性、腎症の悪化を認めるほか、近年では糖尿病性腎症におけるサルコペニア発症メカニズムや GLP-1 による腸内細菌叢の変化と交感神経系の関与、SGLT2 阻害薬による腎保護のメカニズムなど、多臓器間の連関を明らかにしてきた。本研究では 2 型糖尿病の治療戦略の上で、今後重要になると考えられる「肥満症の加療による糖尿病や関連疾患の発症の予防」と「合併症、併存症や多臓器連関のメカニズムに基づいた治療」に向けて、脂肪細胞の転写や分化研究で培った細胞レベル、細胞核、エピゲノムレベルでの解析技術を、腸管インクレチンと腸腎筋神の多臓器連関の研究に活かし、二つの重要な治療戦略を両輪として、得意とする手法を互いに応用し、相乗的な発展と新たな研究の展開を目指す。

**【方法および結果】**Fapb4 プロモーターエンハンサーに *NFIA* 遺伝子の cDNA を導入した NFIA トランスジェニックマウスを作製し、脂肪細胞における NFIA 過剰発現は高脂肪食による耐糖能低下や肥満に対して抵抗性に作用することを明らかにした。白色脂肪組織由来初代培養前駆脂肪細胞の網羅的なトランスクリプトーム解析と遺伝子オントロジー解析から、NFIA はミトコンドリアの酸化的リン酸化経路を増強し、炎症関連遺伝子群を抑制する作用を有していた。ChIP-seq 解析では褐色脂肪遺伝子群とは対照的に、炎症遺伝子群の近傍のエンハンサーに NFIA は結合するものの、PPARγ は共局在しておらず、NFIA の結合によってエンハンサーのヒストンアセチル化は減少しており、遺伝子の転写抑制の原因となっていることが示唆された。GIP 受容体は食事に伴い分泌される消化管インクレチンホルモンであるが、欠損マウスの検討から、脂肪細胞の糖取込みを促進し、肥満を助長する可能性が示されている。GIPR は骨格筋間質に発現しており、*GIPR* 遺伝子改変マウス等の検討から GIP が筋線維間脂肪の制御に役割を果たすことが示唆された。

褐色脂肪特異的転写制御と腸管インクレチンによる多臓器連関のメカニズムに基づいた 2 型糖尿病の治療戦略



# 93. 褐色脂肪とインクレチンの多臓器連関と糖尿病治療戦略

脇　裕典

秋田大学 大学院医学系研究科 代謝・内分泌内科学講座

Key words：褐色脂肪，NFIA，転写制御，エピゲノム，インクレチン

## 緒　言

褐色脂肪細胞は熱産生を介してエネルギーを消費するが、ヒト成人においても機能的な褐色脂肪組織が存在することが報告され［1〜4］、肥満症治療の標的細胞として注目されている。我々は白色と褐色脂肪細胞のエピゲノム解析を施行し、NFIA が脂肪細胞の分化のマスターレギュレーターPPARγのエンハンサーへのリクルートを促進するという新しい機序で、褐色脂肪特異的な転写を制御する重要な制御因子であることを明らかにした［5］。脂肪細胞における NFIA のトランスジェニックマウスが高脂肪食下で体重が有意に低下し、NFIA 脂肪細胞組織特異的欠損マウスではその逆の表現型を見出している。本研究では、クロマチンレベル、細胞レベル、組織レベル、個体レベルで NFIA が全身のエネルギー代謝に果たす役割を明らかにする。一方、腸管由来ホルモンであるインクレチンの様々な臓器における膵外作用および、非肥満で糖尿病性腎症モデルとなる KK/Ta-Ins2（Akita）マウス、GIP 受容体や GLP-1 受容体欠損マウスを中心として、腸管と腎臓、脂肪組織、精巣、肺、骨格筋、中枢神経系の機能連関について明らかにしてきた。GIP 受容体や GLP-1 受容体は脂肪細胞や腎臓にも発現しており、それぞれの欠損マウスは高脂肪食負荷に抵抗性、腎症の悪化を認めるほか［6，7］、近年では糖尿病性腎症におけるサルコペニア発症メカニズム［8］や GLP-1 による腸内細菌叢の変化と交感神経系の関与［9］を報告するなど、多臓器間の連関を明らかにしてきた。本研究ではそれぞれの表現型解析を深化させるほか、脂肪研究で培った細胞レベルやエピゲノム解析も応用する。2 型糖尿病の治療戦略の上で、今後重要になると考えられる「肥満症の加療による糖尿病や関連疾患の発症の予防」と「合併症、併存症や多臓器連関のメカニズムに基づいた治療」に向けて、脂肪細胞の転写や分化研究で培った細胞レベル、細胞核、エピゲノムレベルでの解析技術を、腸管インクレチンと腸腎筋神の多臓器連関の研究に活かし、後者で培った臓器や組織レベルの解析、酸化ストレスなどの細胞障害解析を、脂肪転写制御による全身代謝制御のメカニズム解析に活かすことにより、二つの重要な治療戦略を両輪として、得意とする手法を互いに応用し、相乗的な発展と新たな研究の展開を目指す。

## 方法および結果

### 1. 脂肪細胞における NFIA 過剰発現は高脂肪食による耐糖能低下や肥満に対して抵抗性に作用する

Fapb4 プロモーターエンハンサーに *NFIA* 遺伝子の cDNA を導入した NFIA トランスジェニックマウスを作出した。これらのマウスは野生型と比較して通常食下では体重に差を認めなかったが、高脂肪食下においては野生型と比較して有意に体重増加が抑制された（図 1）［10］。この時、摂餌量に変化はなく、酸素消費量が増加していた。一方で、体重差が認められる前の時点でもブドウ糖負荷試験で耐糖能の改善が認められた。この改善効果の分子機序を明らかにするために、トランスジェニックマウスの白色脂肪組織から初代培養前駆脂肪細胞を単離し、ベージュ脂肪細胞へと分化させる分化系を構築した。RNA-seq による網羅的なトランスクリプトーム解析と遺伝子オントロジー解析（GSEA）を施行したところ、糖尿病状態で減少することが知られているミトコンドリアの酸化的リン酸化経路の増強と、炎症関連遺伝子群の抑制を認めた（図 2）［10］。特に、炎症性サイトカインである TNF-αやマクロファージ遊走因子 MCP-1（*Ccl2* ）の遺伝子の発現が強く抑制されており、実際にトランスジェニックマウスの脂肪組織では高脂肪食で増加するマクロファージの集積が抑制されており、耐糖能の改善への寄与も示唆された。

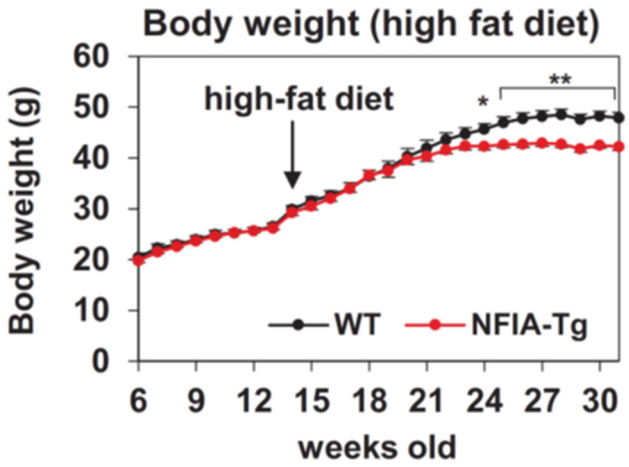



図 1. NFIA トランスジェニックマウスは高脂肪食における体重増加に抵抗性である。
t test、*p<0.05、**p<0.01。（文献 10 より引用、Creative Commons BY-NC-ND 4.0 許諾）。

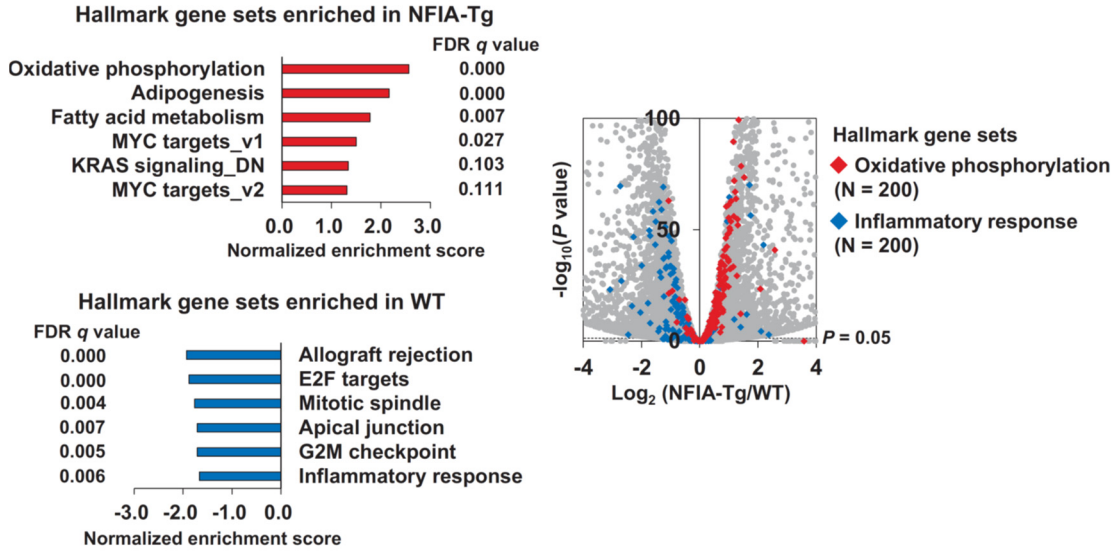



図 2. 初代培養脂肪細胞で NFIA はミトコンドリア酸化的リン酸化遺伝子群を正に、
炎症関連遺伝子群を負に制御する。
左）遺伝子オントロジー（GESA）解析。
右）volcano プロット（文献 10 より引用、Creative Commons BY-NC-ND 4.0 許諾）。

NFIA による炎症性遺伝子群の抑制作用をクロマチンレベルで検討するためにこれらの細胞で NFIA、PPARγ、ヒストンアセチル化に対する ChIP-seq 解析を施行した（図 3）。興味深いことに、褐色脂肪遺伝子群とは対照的に、炎症遺伝子群の近傍のエンハンサーに NFIA は結合するものの、PPARγは共局在しておらず、NFIA の結合によってエンハンサーのヒストンアセチル化は減少しており、遺伝子の転写抑制の原因となっていることが示唆された［10］。

さらに、ヒト脂肪組織における NFIA の役割を検討するために、ヒト脂肪組織の発現データベースにおいて検討した。その結果、代謝的に正常な非肥満と比較して、代謝的に異常がある肥満の白色脂肪組織では *NFIA* 遺伝子が減少し、*CCL2* 遺伝子が増加していることが明らかとなった。

## 2. GIP シグナルとサルコペニアの病態解明

GIP 受容体は食事に伴い分泌される消化管インクレチンホルモンであるが、欠損マウスの検討から、脂肪細胞の糖取込みを促進し、肥満を助長する可能性ことが示されている [6]。検討の結果 GIPR は骨格筋間質に発現しており、*GIPR* 遺伝子改変マウス等の検討から GIP が筋線維間脂肪の制御に役割を果たすことが示唆された（data not shown）。

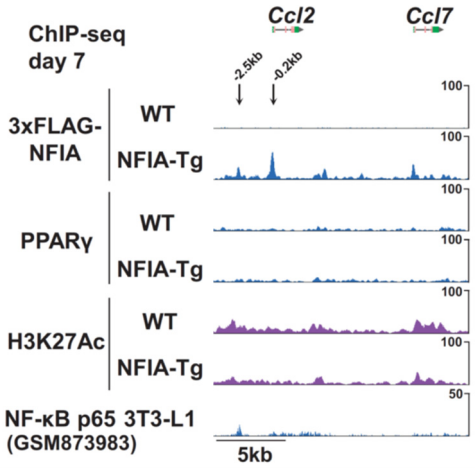



図 3. NFIA はマクロファージ走化性因子 *MCP-1* 遺伝子（Ccl2）の転写をクロマチンレベルで抑制する。FLAG-NFIA、PPARγ、ヒストンアセチル化、NFκB 抗体による ChIP-seq 解析（文献 10 より引用、Creative Commons BY-NC-ND 4.0 許諾）。

## 考　察

本研究により、これまでに我々が肥満症の治療標的として注目される褐色脂肪特異的転写プログラムを制御する因子として同定した NFIA について、遺伝子改変マウスを用いて、組織レベル、細胞レベル、細胞内レベルでその分子メカニズムで NFIA がどのように個体の高脂肪食環境へのアダプテーションに寄与しているか、その全体像を明らかにすることができた。また、GIP シグナルとサルコペニアの病態解明においては、腸管インクレチンと骨格筋の連関が明らかとなった。以上より、「肥満症の加療による糖尿病や関連疾患の発症の予防」と「合併症、併存症や多臓器連関のメカニズムに基づいた治療」に資する成果を展開することができた。

## 共同研究者・謝辞

本研究は、秋田大学大学院医学系研究科代謝・内分泌内科学講座および東京大学大学院医学系研究科糖尿病・代謝内科に属する多くの共同研究者によって行われた。この場を借りて感謝申し上げる。

## 文　献

1） van Marken Lichtenbelt WD, Vanhommerig JW, Smulders NM, Drossaerts JM, Kemerink GJ, Bouvy ND, Schrauwen P, Teule GJ. Cold-activated brown adipose tissue in healthy men. N Engl J Med. 2009 Apr 9;360(15):1500-8. doi: 10.1056/NEJMoa0808718. PMID: 19357405.

2) Virtanen KA, Lidell ME, Orava J, Heglind M, Westergren R, Niemi T, Taittonen M, Laine J, Savisto NJ, Enerbäck S, Nuutila P. Functional brown adipose tissue in healthy adults. N Engl J Med. 2009 Apr 9;360(15):1518-25. doi: 10.1056/NEJMoa0808949. Erratum in: N Engl J Med. 2009 Sep 10;361(11):1123. PMID: 19357407.

3) Cypess AM, Lehman S, Williams G, Tal I, Rodman D, Goldfine AB, Kuo FC, Palmer EL, Tseng YH, Doria A, Kolodny GM, Kahn CR. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. N Engl J Med. 2009 Apr 9;360(15):1509-17. doi: 10.1056/NEJMoa0810780. PMID: 19357406; PMCID: PMC2859951.

4) Saito M, Okamatsu-Ogura Y, Matsushita M, Watanabe K, Yoneshiro T, Nio-Kobayashi J, Iwanaga T, Miyagawa M, Kameya T, Nakada K, Kawai Y, Tsujisaki M. High incidence of metabolically active brown adipose tissue in healthy adult humans: effects of cold exposure and adiposity. Diabetes. 2009 Jul;58(7):1526-31. doi: 10.2337/db09-0530. Epub 2009 Apr 28. PMID: 19401428; PMCID: PMC2699872.

5) Hiraike Y, Waki H, Yu J, Nakamura M, Miyake K, Nagano G, Nakaki R, Suzuki K, Kobayashi H, Yamamoto S, Sun W, Aoyama T, Hirota Y, Ohno H, Oki K, Yoneda M, White AP, Tseng YH, Cypess AM, Larsen TJ, Jespersen NZ, Scheele C, Tsutsumi S, Aburatani H, Yamauchi T, Kadowaki T. NFIA co-localizes with PPARγ and transcriptionally controls the brown fat gene program. Nat Cell Biol. 2017 Sep;19(9):1081-1092. doi: 10.1038/ncb3590. Epub 2017 Aug 14. PMID: 28812581; PMCID: PMC5885759.

6) Miyawaki K, Yamada Y, Ban N, Ihara Y, Tsukiyama K, Zhou H, Fujimoto S, Oku A, Tsuda K, Toyokuni S, Hiai H, Mizunoya W, Fushiki T, Holst JJ, Makino M, Tashita A, Kobara Y, Tsubamoto Y, Jinnouchi T, Jomori T, Seino Y. Inhibition of gastric inhibitory polypeptide signaling prevents obesity. Nat Med. 2002 Jul;8(7):738-42. doi: 10.1038/nm727. Epub 2002 Jun 17. PMID: 12068290.

7) Fujita H, Morii T, Fujishima H, Sato T, Shimizu T, Hosoba M, Tsukiyama K, Narita T, Takahashi T, Drucker DJ, Seino Y, Yamada Y. The protective roles of GLP-1R signaling in diabetic nephropathy: possible mechanism and therapeutic potential. Kidney Int. 2014 Mar;85(3):579-89. doi: 10.1038/ki.2013.427. Epub 2013 Oct 23. PMID: 24152968.

8) Takahashi Y, Shimizu T, Kato S, Nara M, Suganuma Y, Sato T, Morii T, Yamada Y, Fujita H. Reduction of Superoxide Dismutase 1 Delays Regeneration of Cardiotoxin-Injured Skeletal Muscle in KK/Ta-Ins2Akita Mice with Progressive Diabetic Nephropathy. Int J Mol Sci. 2021 May 23;22(11):5491. doi: 10.3390/ijms22115491. PMID: 34071003; PMCID: PMC8197123.

9) Kato S, Sato T, Fujita H, Kawatani M, Yamada Y. Effects of GLP-1 receptor agonist on changes in the gut bacterium and the underlying mechanisms. Sci Rep. 2021 Apr 28;11(1):9167. doi: 10.1038/s41598-021-88612-x. PMID: 33911125; PMCID: PMC8080802.

10) Hiraike Y, Saito K, Oguchi M, Wada T, Toda G, Tsutsumi S, Bando K, Sagawa J, Nagano G, Ohno H, Kubota N, Kubota T, Aburatani H, Kadowaki T, Waki H, Yanagimoto S, Yamauchi T. NFIA in adipocytes reciprocally regulates mitochondrial and inflammatory gene program to improve glucose homeostasis. Proc Natl Acad Sci U S A. 2023 Aug;120(31):e2308750120. doi: 10.1073/pnas.2308750120. Epub 2023 Jul 24. PMID: 37487068