

Banyu Foundation Research Grant 2010—生活習慣病領域—

研究成果最終報告書<概要>

施設・所属: 筑波大学 医学医療系 内分泌代謝・糖尿病内科 氏名 松坂 賢

1. 概要の構成は自由ですが、研究助成報告として広報資料に掲載されます点をご留意ください。
2. 研究目的、研究手法、研究成果など、一般の方にもわかりやすくしてください。
3. 枚数は1ページでまとめてください。(図表、写真などの添付を含む)

【研究背景・目的】生活習慣病の発症と悪化において、脂肪酸の代謝異常が深く関わっている。我々は脂質合成転写因子 SREBP の標的遺伝子として脂肪酸伸長酵素 Elovl6 をクローニングし、本酵素が炭素数 12-16 の飽和・一価不飽和脂肪酸を基質とする長鎖脂肪酸伸張酵素であり、炭素数 18 以上の長鎖脂肪酸の合成に重要なリポジェニック酵素であることを明らかにした (*J Lipid Res.* 43:911, 2002)。さらに、Elovl6 欠損マウスでは脂肪酸組成が変化し、高脂肪食負荷および遺伝的肥満モデルマウスにおいてインスリン抵抗性が抑制されることを報告し、本酵素が生活習慣病の発症に重要な役割を果たしていることを明らかにした (*Nat. Med.* 13:1193, 2007)。本研究では、脂肪酸の重要な標的細胞であるマクロファージ、および脂質代謝の中心臓器である肝臓に着目し、Elovl6 が生活習慣病の終末像である動脈硬化症の発症・病態に及ぼす影響を解明することを目的とした。

【研究手法】①Elovl6 欠損マウス腹腔マクロファージの機能解析、②動脈硬化モデル LDL 受容体欠損マウスへの Elovl6 欠損マウス骨髄の移植、③Elovl6 欠損マウスと LDL 受容体欠損マウスとの交配により、Elovl6 欠損による脂肪酸組成の変化が動脈硬化の発症・進展に及ぼす影響について検討した。①野生型 (WT) および Elovl6 欠損マウス (Elovl6KO) から腹腔マクロファージを単離し、通常培養条件および泡沫化条件での蓄積脂質プロファイルとその構成脂肪酸組成の解析、泡沫化の分析、脂質代謝や炎症反応に関与する遺伝子の発現解析を行った。②骨髄移植により LDL 受容体欠損 (LDLRKO) マウスの骨髄を WT または Elovl6KO マウスの骨髄で置換し、マクロファージでの Elovl6 欠損モデルマウスを作製した。これらキメラマウスにウエスタンダイエツトを負荷し、動脈硬化形成を検討した。③LDLRKO マウスと Elovl6KO マウスの交配により LDLR/Elovl6 ダブル欠損マウスを作製した。このマウスにウエスタンダイエツト (0.15%コレステロール、20%乳脂肪、34%ショ糖) を負荷し、動脈硬化形成を検討した。同時に血中脂質・リポタンパク分析や個体のエネルギー代謝状態の解析を行い、高脂血症状態での糖・脂質代謝における Elovl6 欠損の影響を検討した。

【研究成果】WT マウスおよび Elovl6KO マウスから採取した腹腔マクロファージの脂肪酸組成を調べたところ、Elovl6KO マクロファージでは Elovl6 の基質である C14:0, C16:0, C16:1n-7 が増加し、生成物である C18:0, C18:1n-9 が減少していた。WT および Elovl6KO マウスから採取した腹腔マクロファージにアセチル化 LDL (AcLDL) をふりかけて泡沫化を検討したところ、WT に比べて Elovl6KO マクロファージでは AcLDL による細胞内コレステロール含量の増加が抑制された。このコレステロール含量の低下はコレステロールエステルの減少によるものであり、遊離コレステロールには差がなかった。また、放射線照射した LDL 受容体欠損マウスに WT および Elovl6KO マウスの骨髄を移植し、in vivo においてマクロファージの Elovl6 の欠損が動脈硬化におよぼす影響を検討した。WT または Elovl6KO マウスの骨髄を移植した LDL 受容体欠損マウスにウエスタンダイエツトを 16 週間負荷した後に、大動脈の脂肪染色を行ったところ、WT に比べて Elovl6KO マウスの骨髄を移植した LDL 受容体欠損マウスの動脈硬化は抑制された。したがって、Elovl6 はマクロファージの泡沫化において重要な機能を持ち、動脈硬化の発症・進展に関与していると考えられる。さらに、LDL 受容体欠損マウスと Elovl6 欠損マウスの交配により LDL 受容体/Elovl6 ダブル欠損マウスを作製し、ウエスタンダイエツト負荷による動脈硬化形成を検討した。LDL 受容体/Elovl6 ダブル欠損マウスでは血中 LDL コレステロールの減少および HDL コレステロールの増加が認められた。しかし、LDL 受容体/Elovl6 二重欠損マウスでは摂食量が増加して LDL 受容体欠損マウスに比べてより顕著な肥満を呈し、動脈硬化の程度には両群に差が認められなかった。Elovl6 欠損マウスではショ糖嗜好性の亢進が認められており (未発表データ)、ウエスタンダイエツトに豊富に含まれるショ糖によりダブル欠損マウスで摂食量が増加したと考えられる。現在、肝臓特異的 Elovl6 欠損マウスと LDL 受容体欠損マウスの作製を進めており、肝臓の Elovl6 とリポタンパク代謝、動脈硬化との関連を解析する予定である。

Banyu Foundation Research Grant 2010—生活習慣病領域—

研究成果最終報告書<発表実績/予定一覧>

施設・所属: 筑波大学 医学医療系 内分泌代謝・糖尿病内科 氏名 松坂 賢

	発表時期	発表学会または論文掲載/投稿誌
1	2012年	<u>Matsuzaka T</u> , Atsumi A, Matsumori R, Nie T, Shinozaki H, Suzuki-Kemuriyama N, Kuba M, Nakagawa Y, Ishii K, Shimada M, Kobayashi K, Yatoh S, Takahashi A, Takekoshi K, Sone H, Yahagi N, Suzuki H, Murata S, Nakamuta M, Yamada N, Shimano H. Elovl6 promotes nonalcoholic steatohepatitis in mice and humans. <i>Hepatology</i> . 2012. <i>in press</i> .
2	2012年	Fujimoto Y, Nakagawa Y, Shingyouchi A, Tokushige N, Nakanishi N, Satoh A, <u>Matsuzaka T</u> , Ishii KA, Iwasaki H, Kobayashi K, Yatoh S, Suzuki H, Yahagi N, Urayama O, Yamada N, Shimano H. Dicer has a crucial role in the early stage of adipocyte differentiation, but not in lipid synthesis, in 3T3-L1 cells. <i>Biochem Biophys Res Commun</i> . 20;420(4):931-6, 2012.
3	2012年	Iwasaki H, Naka A, Iida KT, Nakagawa Y, <u>Matsuzaka T</u> , Ishii KA, Kobayashi K, Takahashi A, Yatoh S, Yahagi N, Sone H, Suzuki H, Yamada N, Shimano H. TFE3 regulates muscle metabolic gene expression, increases glycogen stores, and enhances insulin sensitivity in mice. <i>Am J Physiol Endocrinol Metab</i> . 302(7):E896-902, 2012.
4	2011年	Saito R, <u>Matsuzaka T</u> , Karasawa T, Sekiya M, Okada N, Igarashi M, Matsumori R, Ishii K, Nakagawa Y, Kobayashi K, Yatoh S, Takahashi A, Sone H, Suzuki H, Yahagi N, Yamada N, Shimano H: Macrophage Elovl6 deficiency ameliorates foam cell formation and reduces atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. <i>Arterioscler Thromb Vasc Biol</i> , 31(9):1973-9, 2011.
5	2011年	Karasawa T, Takahashi A, Saito R, Sekiya M, Igarashi M, Iwasaki H, Miyahara S, Koyasu S, Nakagawa Y, Ishii K, <u>Matsuzaka T</u> , Kobayashi K, Yahagi N, Takekoshi K, Sone H, Yatoh S, Suzuki H, Yamada N, Shimano H: Sterol Regulatory Element-Binding Protein-1 Determines Plasma Remnant Lipoproteins and Accelerates Atherosclerosis in Low-Density Lipoprotein Receptor-Deficient Mice. <i>Arterioscler Thromb Vasc Biol</i> , 31(8):1788-95, 2011.
6	2011年	<u>Matsuzaka T</u> , Shimano H: Molecular mechanisms involved in hepatic steatosis and insulin resistance. <i>Journal of Diabetes Investigation</i> . 2(3):170-175, 2011. Review.

7	2011年	Kumadaki S, Karasawa T, <u>Matsuzaka T</u> , Ema M, Nakagawa Y, Nakakuki M, Saito R, Yahagi N, Iwasaki H, Sone H, Takekoshi K, Yatoh S, Kobayashi K, Takahashi A, Suzuki H, Takahashi S, Yamada N, Shimano H. Inhibition of ubiquitin ligase F-box and WD repeat domain-containing 7 α (Fbw7 α) causes hepatosteatosis through Krüppel-like factor 5 (KLF5)/peroxisome proliferator-activated receptor γ 2 (PPAR γ 2) pathway but not SREBP-1c protein in mice. <i>J Biol Chem.</i> 286(47):40835-46, 2011.
8	2012年	Nakano Y, <u>Matsuzaka T</u> , Nie T, Suzuki M, Shimano H. Deletion of Elovl6 protects against the failure of pancreatic beta cell mass and function in db/db mice. 第35回日本分子生物学会年会 2012年12月11日マリンメッセ福岡
9	2012年	<u>Matsuzaka T</u> , Nie T, Suzuki-Kemuriyama N, Kuba M, Nakagawa Y, Ishii K, Shimada M, Kobayashi K, Yatoh S, Takahashi A, Sone H, Yahagi N, Suzuki H, Nakamuta M, Yamada N, Shimano H. Elovl6 promotes nonalcoholic steatohepatitis in mice and humans. 9th IDF-WPR Congress & 4th AASD Scientific Meeting. November 26, 2012. (Kyoto International Conference Center)
10	2012年	<u>Takashi Matsuzaka</u> , Rie Matsumori, Tsuyoshi Yamazaki, Haruna Shinozaki, Hiroyuki Daida, Yukio Nagasaki, Hitoshi Shimano. "PEGylated and quaternized polyamine nanogel", a brand-new bile acid sequestrant, ameliorates lipoprotein profiles and reduces atherosclerosis in low-density-lipoprotein receptor deficient and apolipoprotein E deficient mice. Gelsympo. October 9-12, 2012. つくば国際会議場
11	2012年	Tadayoshi karasawa, Toru Yoshitomi, Taiki Iwabuchi, <u>Takashi Matsuzaka</u> , Yukio Nagasaki, Hitoshi Shimano. Radical-containing Nanoparticle Exhibits Anti-atherosclerotic Properties in Low-density Lipoprotein receptor Deficient Mice. Gelsympo. October 9-12, 2012. つくば国際会議場
12	2012年	松坂 賢、齋藤 亮、唐澤 直義、松森 理恵、煙山 紀子、中川 嘉、石井 清朗、岩崎 仁、小林 和人、矢藤 繁、高橋 昭光、曾根 博仁、鈴木 浩明、矢作 直也、山田 信博、島野 仁：マクロファージ泡沫化および動脈硬化における脂肪酸伸長酵素 Elovl6 の役割、第55回日本糖尿病学会年次学術集会、2012.
13	2012年	篠崎悠奈、矢作直也、武内謙憲、西真貴子、中川嘉、石井清朗、 <u>松坂賢</u> 、岩崎仁、小林和人、矢藤繁、高橋昭光、曾根博仁、鈴木浩明、山田信博、島野仁、脂肪酸伸長酵素 ELOVL5 のエンハンサー領域の同定と SREBP による発現制御機構の解析、第55回日本糖尿病学会年次学術集会、2012.