

研究成果報告書(最終) <概要>

所属	朝日生命成人病研究所
氏名	櫛山暁史
研究テーマ	マクロファージ由来キサンチン酸化還元酵素による生活習慣病の発症メカニズムの解析

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

生活習慣病の発症や治療に対し食事の成分、特に砂糖・脂質は疫学的に関連が強い。これらの物質の代謝に際しATPを一過性に消費するが、その際に発生する余剰核酸は、尿酸代謝の律速酵素であるキサンチンオキシダーゼ(XOR)により尿酸に代謝され、同時に活性酸素種(ROS)を生じると言われる。これまで我々は、動脈硬化巣マクロファージに XOR が存在し動脈硬化の進展に関与することを見出し、生活習慣病全般にマクロファージ XOR が関与する可能性があると考えている(ATVB, 2012)。

本研究では脂質代謝異常状態ではショ糖(特に構成成分のフルクトース)が、マクロファージ XOR を介し、脂肪蓄積とインスリン抵抗性を増悪させ、生活習慣病、特に糖尿病、NASH を発症するという仮説をたてた。XOR<sup>fllox</sup> マウスが得られ、組織特異的プロモーター(Alb, Lys, Tie2, aP2)-Cre をもつマウスと交配し、組織特異的 XORKO マウスを作成した。種々の組織・細胞の XOR あるいは XOR 由来の ROS が、生活習慣病に関連する程度や機序を検討し、以下の研究成果が挙げられている。

①高ショ糖食と高脂肪食の臓器障害をきたす経路の違い

高ショ糖食・高脂肪食は脂肪肝・インスリン抵抗性をきたすが、特に高ショ糖食では体重増に比して肝組織障害が強い。高ショ糖・高脂肪食では酸化ストレスマーカーは相乗的に増加するが、XOR 阻害剤投与で高ショ糖食による ROS 発生が抑制され、脂肪肝が改善した(Fig1,2)。高脂肪食による肝脂肪蓄積は抑制できなかった。さらにマクロファージのみで XOR が欠損すると、高ショ糖食による酸化ストレスマーカー上昇は抑制された(Fig.3)。さらに、マクロファージ XORKO マウスでは耐糖能が良好で、インスリン感受性が増していた。

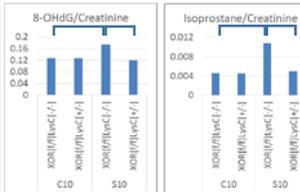


Fig.3 マクロファージ特異的 XORKO マウスのショ糖代謝由来 ROS 抑制  
C10:コントロール食 S10:高ショ糖食  
LysC:マクロファージ特異的 Cre

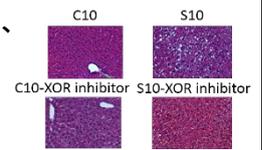


Fig1:S10:高ショ糖食誘導脂肪肝と XOR 阻害による改善

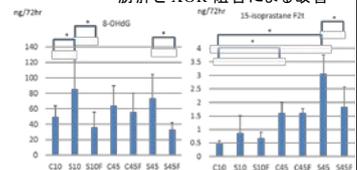


Fig.2 8OHdG とイソプロスタタン  
C10:コントロール食 S10:ショ糖食  
C45:高脂肪食 S45 高脂肪高ショ糖食  
F:XOR 阻害剤

②食事性肥満 NASH モデルの XOR による改善

食事肥満 NASH モデルはこれまで存在しなかったが、今回トランス脂肪酸含有高ショ糖食でヒト NASH に近い病態を示すモデルが作成出来た。本モデルでは肝でインスリン抵抗性、脂肪蓄積、炎症、線維化、アポトーシスが生じるが、これらを XOR 抑制によって劇的に改善できた(Fig.4)。トランス脂肪酸単独では NASH にならないため、本モデルでは高ショ糖代謝由来の ROS が NASH 発症初期の Trigger として重要と考えられた。

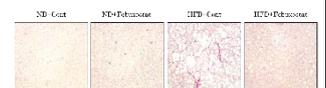
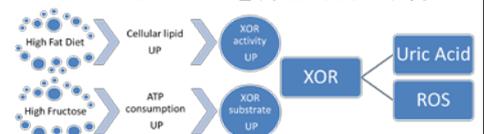


Fig.4. 肥満 NASH モデルにおける Febusostat による線維化改善

③脂肪蓄積に伴う XOR 活性化と、果糖負荷による酸化ストレス

培養マクロファージにおける生活習慣病状態での XOR 活性変化を検討したが、脂肪蓄積・炎症のどちらでも XOR は活性化された。さらに、マクロファージに果糖を負荷すると ROS 産生が亢進し、XOR 阻害、XOR ノックダウンによって抑制された。同量の D-Glucose や代謝されない L-Glucose 負荷では ROS 産生は見られず、浸透圧などの影響ではなく、果糖代謝に伴って ROS が産生され、XOR 阻害がこの ROS 産生阻害に重要であることが明らかとなった。

以上の検討より、高脂肪による脂肪蓄積とショ糖代謝に伴う酸化ストレスは XOR を介しており、特にマクロファージでの核酸代謝が ROS による臓器障害に関与することが明らかとなった。ヒトの生活習慣病に発症に関連する機序を明らかに出来た。



以上を明らかに出来た。

**Banyu Foundation Research Grant 2012—生活習慣病領域—**  
**研究成果報告書(最終) <発表実績/予定一覧>**

所 属	朝日生命成人病研究所
氏 名	櫛山暁史

1. 論文発表実績	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。</li> <li>・ 掲載年次順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。</li> <li>・ 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年(西暦)、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。</li> <li>・ 国内外雑誌を問わない。</li> <li>・ 印刷中は in press と記入、学会のアブストラクトおよび投稿中の論文は含めない。</li> <li>・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul>
1	櫛山暁史 尿酸代謝と生活習慣病の新知見 生体の科学 in press 2014年 査読無
2	Kentaro Tanaka, Shigeko Hara, Masakazu Hattori, Ken Sakai, Yukiko Onishi, Yoko Yoshida, Shoji Kawazu and <u>Akifumi Kushiyama</u> Role of elevated serum uric acid levels at the onset of overt nephropathy in the risk for renal function decline in patients with type 2 diabetes JOURNAL OF DIABETES INVESTIGATION in press 査読有
3	<u>Kushiyama A</u> , Yoshida Y, Kikuchi T, Suzawa N, Yamamoto M, Tanaka K, Okayasu M, Tahara T, Takao T, Onishi Y, Kawazu S. Twenty-year trend of increasing obesity in young patients with poorly controlled type 2 diabetes at first diagnosis in urban Japan. J Diabetes Investig. 2013 Nov 27;4(6):540-5. 査読有
4	<u>Kushiyama A</u> , Sakoda H, Oue N, Okubo M, Nakatsu Y, Ono H, Fukushima T, Kamata H, Nishimura F, Kikuchi T, Fujishiro M, Nishiyama K, Aburatani H, Kushiyama S, Iizuka M, Taki N, Encinas J, Sentani K, Ogonuki N, Ogura A, Kawazu S, Yasui W, Higashi Y, Kurihara H, Katagiri H, Asano T Resistin-like molecule $\beta$ is abundantly expressed in foam cells and is involved in atherosclerosis development. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2013 Aug;33(8):1986-93. 査読有
5	Hashikata A, Yamashita A, Suzuki S, Nagayasu S, Shinjo T, Taniguchi A, Fukushima M, Nakai Y, Nin K, Watanabe N, Asano T, Abiko Y, <u>Kushiyama A</u> , Nagasaka S, Nishimura F. The inflammation-lipocalin 2 axis may contribute to the development of chronic kidney disease. Nephrol Dial Transplant. 2014 Mar;29(3):611-8. 査読有
6	Okubo H, Sakoda H, <u>Kushiyama A</u> , Fujishiro M, Nakatsu Y, Fukushima T, Matsunaga Y, Kamata H, Asahara T, Yoshida Y, Chonan O, Iwashita M, Nishimura F, Asano T. Lactobacillus casei strain Shirota protects against nonalcoholic steatohepatitis development in a rodent model. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2013 Dec;305(12):G911-8. 査読有
7	Zhang J, Nakatsu Y, Shinjo T, Guo Y, Sakoda H, Yamamoto T, Otani Y, Okubo H, <u>Kushiyama A</u> , Fujishiro M, Fukushima T, Tsuchiya Y, Kamata H, Iwashita M, Nishimura F, Katagiri H, Takahashi S, Kurihara H, Uchida T, Asano T. Par14 protein associates with insulin receptor substrate 1 (IRS-1), thereby enhancing insulin-induced IRS-1 phosphorylation and metabolic actions. J Biol Chem. 2013 Jul 12;288(28):20692-701. 査読有
8	Otani Y, Nakatsu Y, Sakoda H, Fukushima T, Fujishiro M, <u>Kushiyama A</u> , Okubo H, Tsuchiya Y, Ohno H, Takahashi S, Nishimura F, Kamata H, Katagiri H, Asano T. Integrator complex plays an essential role in adipose differentiation. Biochem Biophys Res Commun. 2013 May 3;434(2):197-202. 査読有

9	Iwashita M, Nakatsu Y, Sakoda H, Fujishiro M, <u>Kushiyama A</u> , Fukushima T, Kumamoto S, Shinjo T, Kamata H, Nishimura F, Asano T. Valsartan restores inflammatory response by macrophages in adipose and hepatic tissues of LPS-infused mice. <i>Adipocyte</i> . 2013 Jan 1;2(1):28-32.査読有
10	Nakatsu Y, Otani Y, Sakoda H, Zhang J, Guo Y, Okubo H, <u>Kushiyama A</u> , Fujishiro M, Kikuch T, Fukushima T, Ohno H, Tsuchiya Y, Kamata H, Nagamachi A, Inaba T, Nishimura F, Katagiri H, Takahashi S, Kurihara H, Uchida T, Asano T. Role of Pin1 protein in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis in a rodent model. <i>J Biol Chem</i> . 2012 Dec 28;287(53):44526-35.査読有

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。</li> <li>・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。</li> <li>・ アブストラクト、プログラム等の PDF を添付すること。</li> <li>・ 国内外を問わない。</li> <li>・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul>		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2014年9月	第5回 MCC(Molecular Cardiovascular Conference) II 櫛山 暁史 食事成分が誘引となる血管障害
2	2014年6月	74thADA scientific sessions Akifumi Kushiyama1, Hirofumi Okubo2, Yusuke Nakatsu2, Hideyuki Sakoda3, Midori Fujishiro4, Toshiaki Fukushima2, Shin-ichiro Takahashi2, Tomoichiro Asano Involvement of Resistin-like molecule $\beta$ in the development of non-alcoholic steatohepatitis
3	2014年5月	第57回日本糖尿病学会学術集会 藤城緑、中津祐介、福嶋俊明、松永泰花、迫田秀之、櫛山暁史、山本屋武、西村英紀、浅野知一郎 キサンチンオキシダーゼ阻害剤 Febuxostat による NASH 改善作用の検討
4	2014年5月	第57回日本糖尿病学会学術集会 櫛山暁史 菊池貴子 迫田秀之 藤城緑 山崎広貴 山本屋武 大久保博史 中津祐介 河津捷二 浅野知一郎 マクロファージ resistin like molecule $\beta$ によるインスリン抵抗性・動脈硬化発症の機序
5	2013年9月	第4回 MCC(Molecular Cardiovascular Conference) II 櫛山暁史 菊池貴子、櫛山櫻、浅野知一郎、西山功一、栗原裕基 食事成分が誘引となる血管障害
6	2013年8月	VBIC(Vascular Biology Innovation Conference) 櫛山暁史 食事成分による炎症が関与する血管障害の機序
7	2013年7月	第45回日本動脈硬化学会総会・学術集会 A. Kushiyama, T. Kikuchi, H. Sakoda, M. Fujishiro, K. Nishiyama, H. Kurihara, Y. Higashi, S. Kawazu, T. Asano Involvement of macrophage-derived resistin like molecule $\beta$ in atherosclerosis development
8	2013年5月	第56回日本糖尿病学会年次学術集会 櫛山暁史、菊池貴子、大西由希子、田原たづ、高尾淑子、山本万友美、須澤直木、吉田洋子、河津捷二 空腹時活性化 GLP-1 による DPP4 阻害薬シタグリプチンの効果予測
9	2012年12月	分子糖尿病学シンポジウム 2012年インスリン抵抗性および大血管障害におけるマクロファージ由来 resistin like molecule $\beta$ の意義 櫛山 暁史 大久保 博史、迫田 秀之、菊池 貴子、中津 祐介、山本屋武、山崎広貴、藤城 緑、門脇孝、鎌田 英明、河津捷二、浅野知一郎
3. 投稿、発表予定(投稿中の論文も含める)		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2014年9月	World Journal of Diabetes (Review) 投稿中
2	2014年12月	分子糖尿病研究会

3	2015 年 1 月	月刊カレントセラピー (Vol.33 No.1)
4	2015 年 3 月	ここまで明らかになった！尿酸代謝ワールドと高尿酸血症の病態解明
5	2015 年 5 月	第 58 回日本糖尿病学会
6	2015 年 6 月	ADA 2015