

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成 28 年 4 月 14 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 群馬大学医学部附属病院
職 名 講師
研究代表者 佐藤 哲郎

下記のとおり平成27年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 13015)

1. 共同研究課題名	Helz2 ノックアウト (KO)マウスにおける高脂肪食誘導性脂肪肝抵抗性の分子機構の更なる解明			
2. 共同研究目的	核内受容体 PPAR γ の転写共役因子 Helz2 KO マウスにおける高脂肪食誘導性脂肪肝抵抗性の機序を分子レベルで解明し、脂肪肝の新たな治療標的を同定する。			
3. 共同研究期間	平成 26 年 4 月 1 日 ~ 平成 28 年 3 月 31 日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役割分担	
(研究代表者) 佐藤哲郎	医学部附属病院	講師	研究の総括を行う	
(分担研究者) 佐々木 努 登丸 琢也	生体調節研究所 群馬大学医学部附属病院	准教授 医員	アデノウイルスベクターの構築 マウス表現型、遺伝子発現・蛋白解析	
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	代謝シグナル解析	氏 名	北村忠弘

※ 次の6, 7, 8の項目は, 枠幅を自由に変更できます。但し, 6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

(課題番号:)

6. 共同研究計画

私達は高脂肪食誘導性脂肪肝抵抗性を示す Helz2 KO マウス肝臓における遺伝子発現の変化をマイクロアレイにて解析した結果、KO マウス肝臓において、レプチン受容体 B (ObRb)が高発現していることを見出した。実際に、KO マウス肝臓において、ObRb の下流に位置する AMP-stimulated kinase (AMPK)が活性化されていること、ならびに KO マウス由来初代培養肝細胞において脂肪酸 β 酸化が亢進していることを確認した。本研究では、高脂肪食負荷野生型マウス肝臓にアデノウイルスベクターを用いて ObRb を高発現させ、高脂肪食誘導性肥満や脂肪肝形成が減弱するかどうか検討し、肝臓 ObRb や Helz2 が脂肪肝の新たな治療標的になりうるか検討を行う。更に Helz2 による ObRb 遺伝子発現制御機構を、Helz2 に対する short hairpin (sh) RNA を発現するアデノウイルスベクターなどを用いて、初代培養肝細胞を用いて検討する。

7. 共同研究の成果

生体調節研究所共同研究担当教員である北村教授、佐々木准教授により作成された ObRb 発現ウイルスベクターを、種々の濃度で高脂肪食負荷野生型マウス尾静脈より静注後肝臓を採取し、肝臓 Ob-Rb mRNA 発現を qRT-PCR にて定量し、アデノウイルスの至適投与量を決定した。1 週ごとに至適量のアデノウイルスの投与を繰り返し、摂餌量と体重などを測定し、4 週後に血清ならびに各臓器を採取した。ObRb 発現ウイルスベクター投与により、肝臓においてのみ Ob-Rb mRNA 発現が増加し、体重増加が抑制され、血清脂質は有意に低下し、肝臓における AMPK 活性化が認められた。また高脂肪食負荷野生型マウスに対して Helz2 に対する shRNA 発現アデノウイルスベクターを投与したところ、Helz2 mRNA は約 40%まで減少し、肝臓 ObRb 発現が有意に増加した。以上の成績より、高脂肪食負荷野生型マウスにおいて、肝臓特異的な ObRb の過剰発現により、肝臓 AMPK が活性化され、更に脂肪酸酸化が亢進する結果、摂食量に変化を及ぼさずに、体重増加率が減少し、最終的に脂肪肝が改善されることが期待される。肝臓 ObRb 発現増強剤や Helz2 機能阻害剤の開発は、近年その患者数が増加している脂肪肝の新たな治療薬に結びつく可能性がある。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本研究所の担当教員の氏名の記載、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

○ Yoshino S, Satoh T, Yamada M, Hashimoto K, Tomaru T, Katano-Toki A, Tomaru T, Kakizaki S, Okada S, Shimizu H, Ozawa A, Tuchiya T, Ikota H, Nakazato Y, Mori M, Matozaki T, Sasaki T, Kitamuta T, Mori M Protection against high-fat diet induced obesity in Helz2-deficient mice due to enhanced expression of hepatic leptin receptor. Endocrinology 2014 155:3459-3472