

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

令和 2年 4月 20日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 徳島大学 大学院医歯薬学研究部 代謝栄養学分野
職 名 特任助教
研究代表者 黒田 雅士

下記のとおり令和元年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 19006)

1. 共同研究課題名	熱産生機構に対するアミノ酸代謝の意義			
2. 共同研究目的	<p>エネルギー蓄積型の白色脂肪組織に対し、消費型の褐色脂肪組織(BAT)はその機能を高めることで肥満治療への活用が期待される。</p> <p>BAT 機能はミトコンドリア内膜に存在する脱共役タンパク質(UCP1)が担い、寒冷環境下では内膜間のプロトン濃度勾配を産熱に利用することで個体の体温保持に役立つ。申請者らは寒冷暴露後マウスのメタボローム解析の結果、BAT においてアミノ酸が顕著に増加すること、このうちいくつかのアミノ酸についてはUCP1 欠損マウスでは寒冷暴露による増加が消失することなどを見出だした。</p> <p>本研究は熱産生機構におけるアミノ酸代謝の意義を解明し、人にも安全性の高い肥満治療・予防法確立に向けた基礎知見を得るためのものである。</p>			
3. 共同研究期間	平成31年 4月 1日 ~ 令和 2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)	黒田 雅士	大学院医歯薬学研究部・代謝栄養学分野	特任助教	研究総括、メタボローム解析
(分担研究者)	阪上 浩	大学院医歯薬学研究部・代謝栄養学分野	教授	研究立案、助言
	川端 康代	大学院医歯薬学研究部・代謝栄養学分野	大学院生	細胞培養・動物実験の実施
5. 群馬大学生体調節研究所の共同研究担当教員	分野名	代謝シグナル解析分野	氏 名	北村 忠弘

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に變更できます。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:19006)

6. 共同研究計画

計画①:アミノ酸代謝を制御する因子の探索

寒冷による代謝動態変化を遺伝子発現レベルで理解するため、寒冷刺激を行った野生型および UCP1 欠損マウスの BAT またはマウスより単離・培養した褐色脂肪培養細胞にて DNA マイクロアレイを実施する。UCP1 依存的に寒冷刺激で変化する遺伝子を抽出し、メタボローム解析結果とともに変動遺伝子のマッピングやパスウェイ解析を実施する。これにより UCP1 による脱共役反応と各種栄養素(特にアミノ酸)の代謝・取り込みとその調節に関与すると予想される遺伝子発現変化を明らかにする。

計画②:寒冷により取り込まれたアミノ酸はどのような運命をたどるのか

マウスより作製した褐色脂肪細胞株を用いて安定同位体ラベルしたアミノ酸を培養液に添加し、 $\beta 3$ アドレナリン受容体 ($\beta 3$ ADR) アゴニストで刺激した際のメタボローム解析を実施する。これにより、褐色脂肪細胞が活性化された際の各種アミノ酸代謝の流れや脂質酸化との連動を理解する。同様に同位体ラベルしたアミノ酸を静脈投与したマウスを寒冷暴露し、BAT やそのほかの代謝臓器メタボローム解析を行うことで生体における代謝を確認するとともに組織間での連関を明らかにしたい。

計画③:アミノ酸欠乏・代謝障害が与える褐色脂肪細胞機能への影響とは

作製した褐色脂肪細胞株に対し、計画①や計画②で明らかになったアミノ酸代謝関連遺伝子のノックダウンを行う。 $\beta 3$ ADR アゴニスト刺激を行い、フラックスアナライザーによる酸素消費速度の測定、メタボローム解析によるアミノ酸代謝や脂質合成、分解系に対する影響を評価する。また UCP1 や mtCo1、PGC-1 α をはじめとした遺伝子解析を実施する。

7. 共同研究の成果

寒冷暴露したマウス褐色脂肪組織の詳細なメタボローム解析の結果、種々のアミノ酸濃度の変動ともに解糖系、ペントースリン酸経路、TCA 回路に属する様々な代謝産物に変化することを確認した。一方でこのような代謝物の変動は皮下・精巣周囲脂肪組織などでは減弱またはほとんど観察することができなかった。

褐色脂肪組織における熱産生機能の鍵分子である脱共役タンパク質 UCP1 (Un-coupling protein 1) を遺伝的に欠いたマウスは寒冷不耐性を示す。この欠損マウス褐色脂肪組織では寒冷野生型マウスで認められた解糖系・TCA 回路中間代謝産物の増加が減弱または消失していた。

このような代謝物の変動と遺伝子発現変化との関連を検討する目的で同じく寒冷暴露した際のマウス褐色脂肪組織における DNA マイクロアレイを実施し、野生型・UCP1 欠損マウスにおける遺伝子発現プロファイルについて現在検討を進めている。野生型マウスで寒冷により発現が誘導され、かつ欠損マウスで変化しない遺伝子群を抽出し、Gene Ontology 解析したところ Fructokinase Activity、Hexokinase Activity、Amino Acid Transmembrane Transporter Activity などの糖・アミノ酸代謝に関連する遺伝子が濃縮されることが明らかになった。今後はこれら遺伝子群の制御因子について解析を進める予定である。

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のある論文、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。)

①本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

投稿準備中

②この共同研究に基づくとの記載のある論文

投稿準備中