

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 3年 3月 29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
職 名 特任助教
研究代表者 黒田 雅士

下記のとおり令和2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による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。申請者らは野生型および寒冷不耐性を示す UCP1欠損マウス BAT のメタボローム解析を行ない寒冷暴露後のBATで変動する代謝物を解析したところ、UCP1依存的にアミノ酸が活性化されることを見出した。</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	令和 2年 4月 1日 ~ 令和 3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	医歯薬学研究部・代謝栄養学分野	特任助教	研究の総括 メタボローム解析
(分担研究者)	阪上 浩	医歯薬学研究部・代謝栄養学分野	教授	研究の立案、助言
	富永 玲奈	医歯薬学研究部・代謝栄養学分野	大学院生	培養細胞・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 教授

※ 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。

6. 共同研究計画

計画①:肥満モデルマウス褐色脂肪組織におけるアミノ酸濃度の解析

肥満形成過程では交感神経の亢進状態にあるにもかかわらず、BATにおける熱産生機構の障害が生じており、エネルギー消費の低下および肥満のさらなる増悪に寄与すると想定されている。高脂肪食給餌肥満モデルマウスを作製し寒冷暴露もしくは β アドレナリン受容体作動薬 CL316243 投与後 BATを摘出し、キャピラリー電気泳動-飛行時間型質量分析装置(GE-TOF/MS)によるアミノ酸分析を行う。

計画②:標識アミノ酸投与によるトレース実験

放射線同位元素で標識したアミノ酸を尾静脈よりマウスへ投与し、寒冷暴露の後撮像することで各組織へのアミノ酸の集積を評価する。さらに安定同位体である ^{13}C で標識した各種アミノ酸をマウスへの投与もしくは培養褐色脂肪細胞の培地への添加を実施し、アミノ酸がどのような経路にて代謝されるのかを評価する。同様の実験をUCP1 欠損マウスや UCP1 をノックダウンした培養細胞にて実施し、熱産生機構との関連を検討する。

計画③:アミノ酸欠乏・代謝障害による熱産生機構への影響評価

マウスより作製した褐色脂肪細胞株に対し、アミノ酸代謝関連酵素に対する阻害剤や遺伝子のノックダウンを行うことでアミノ酸利用障害を誘導するか、もしくはアミノ酸欠乏(減量)環境下にて培養する。 β 3アドレナリンを培地に添加し、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評価、UCP1 や mtCo1、PGC-1 α をはじめとした遺伝子解析を実施する。同様の検討をマウスに対しても実施し、BATにおける遺伝子発現解析、血液生化学検査などによる糖・脂質代謝への影響、ガス分析による酸素消費量の測定などを実施する。

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ている。また、熱産生型の培養脂肪細胞においても Folskolin 刺激によって同様の代謝物プロファイルの変化が生じることを確認している。一方で、3T3-L1 細胞のような白色脂肪様の培養脂肪細胞ではそのような変化は観察されなかった。また、熱産生関連及び、そのほかの代謝関連遺伝子のノックダウン実験についても現在予備検討を進めており、令和3年度中に本試験を実施予定である。

また極性代謝物を標的とする GE-MS に加えて、ガスクロマトグラフィー-質量分析装置(GC-MS)を用いた脂質分析系の確立を試み、動物組織由来のサンプルについて脂質分析がほぼ可能な状態にある。寒冷暴露マウスの褐色脂肪組織や熱産生型培養脂肪細胞に対して GC-MS による脂質解析を実施し、GE-MS の結果とあわせて脂質代謝と糖・アミノ酸代謝との関連についても検討を進める予定である。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換(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

③学会発表を行った主なもの3件以内(学会名、開催日、演題) 該

当なし

④本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況(主なやり取りを箇条書き)

申請者より共同研究に関わる報告を行うとともに、必要に応じ担当教員からの助言を受けた