

受賞者

亀井康富 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子代謝医学分野

研究テーマ

骨格筋における脂質代謝の分子機構の解明と生活習慣病予防への応用

1. はじめに

骨格筋は人体で最大の組織であり、エネルギー代謝、糖取込み、運動において重要な役割を果たし、十分な骨格筋機能を保つことは肥満や糖尿病等の生活習慣病予防の観点からも重要であると考えられる（図1）。一方、骨格筋機能の維持に筋肉内脂肪量が関与する可能性が最近注目されている。しかしながら、筋肉内脂肪量調節の分子機構には不明の点が多い。本研究では、筋肉内脂肪量の調節分子として、栄養条件により著しく発現変動する転写因子である RXR γ （図2）に新たに着目し、我々が独自に作製した遺伝子操作マウスを用いて骨格筋の遺伝子発現機構の検討を施行する極めて独創的なものである。本研究は骨格筋の脂質代謝の分子機構の解明と生活習慣病予防を目指す基礎研究であるが、骨格筋機能保持の分子機構が明らかになると、これらをターゲットとした新しい創薬の可能性の提案が可能となる。

2. 方法

(1) 培養細胞等を用いたin vitroの解析：

本研究では、骨格筋におけるSREBP1c遺伝子発現におけるLXR/RXR（特にRXR γ ）やFOXO1の機能的意義を分子レベルで解明することを目指した。筋細胞株であるC2C12細胞にRXR γ やFOXO1を強制発現させてSREBP1cあるいは脂質代謝関連遺伝子（FAS）の発現を検討した。ゲルシフトアッセイ法やルシフェラーゼアッセイ法により、標的遺伝子プロモーターを用いて転写発現調節におけるLXR/RXR（特にRXR γ ）やFOXO1の機能的意義を検討した。

(2) 遺伝子操作マウスの作成と解析：

A. RXR γ マウスおよびFOXO1マウスの骨格筋の解析

RXR γ マウスの骨格筋の重量、形状、色調を野生型マウスと比較した。DNAマイクロアレイ法による遺伝子

発現プロフィールの解析により、骨格筋における脂質代謝関連遺伝子の発現変動を網羅的に解析した。このマウスを用いて骨格筋機能（運動、糖取込み、エネルギー消費など）におけるRXR γ の生理的・病態生理的意義を検討した。SREBP1c遺伝子発現には核内受容体のLXRファミリー（RXRファミリーとヘテロダイマーをつくる）が関与することが知られる。RXR γ マウスの骨格筋でSREBP1cおよびLXR α , β 、RXR α , β , γ 、そして脂質合成酵素遺伝子の発現を検討した。またRXR γ マウスの骨格筋で脂肪蓄積が増加しているかを調べるためトリグリセリド量を測定した。

B. dominant negative RXR γ トランスジェニックマウス (DN-RXR γ マウス) の作製と解析

我々は既に、RXR γ のシグナルを抑制する変異型RXR γ 蛋白質（DN-RXR γ ）（RXR γ (E454Q)）を作製した（Cell 85: 403-414, 1996）。本研究では、骨格筋においてDN-RXR γ を過剰発現するトランスジェニックマウスを作製した（図3）。

3. 結果 研究成果

SREBP1cは肝臓や脂肪組織における脂質代謝のマスターレギュレーターであるが、骨格筋においても肝臓や脂肪組織に匹敵するSREBP1cが発現しており、栄養条件によりSREBP1cの発現が大きく変動することが報告されている。更に、肝臓や脂肪組織におけるSREBP1cの遺伝子発現には核内受容体LXR/RXRが重要な役割を果たすことが証明されている。一方、肝臓においてフォークヘッド型転写因子FOXO1を過剰発現するトランスジェニックマウスでは、SREBP1cの遺伝子発現が減少すること、FOXO1はコレプレッサーとして複数の核内受容体の転写促進作用を抑制的に作用することが報告されている。以上の背景を踏まえ、絶食・再摂食のようなエネルギー状態の変動により骨格筋において核内受容体RXR γ の遺伝子発現が著しく変動することを見出した（図2）。今回、骨格筋特異的にRXR γ あるいはそのドミナントネガティブ変異体を過剰発現するトランスジェニックマウス（RXR γ マウスおよびDN-RXR γ マウス、図3）を作製し、その骨格筋ではそれぞれSREBP1cの遺伝子発現が著しく増加（図4）あるいは減少していることを見出した。またRXR γ の過剰発現により、SREBP1cの発現増加に伴い、筋肉内脂肪量の増加が観察された（図5）。以前に作製していたFOXO1を骨格筋で過剰発現するトランスジェニックマウス（FOXO1マウス）ではSREBP1cおよびRXR γ の遺伝子発現が減少していた。In vitroの解析によりFOXO1はRXR/LXRを介する

SREBP1c の遺伝子活性化を抑制する事を明らかにした。これらの結果は、骨格筋において SREBP1c の遺伝子発現は RXR/LXR により活性化され、FOXO1 により負に調節されることを *in vivo*, *in vitro* で示すものである (図6)。

次に骨格筋サンプルについてマイクロアレイを行い、RXR γ マウスの骨格筋においてグリコーゲン合成関連遺伝子群の発現が協調的に増加していることが判明し、骨格筋グリコーゲン量を測定したところ RXR γ マウスで増加していた。RXR γ マウスの糖代謝能を検討するため、糖負荷試験及びインスリン負荷試験を行い、RXR γ マウスの血糖値は糖負荷後も野生型コントロールマウスに比較して低く保たれていることが明らかとなった。一方、インスリン負荷試験の結果からインスリン感受性については両群に差は認められなかった。このことより、インスリン刺激による血糖降下作用に差はないが、RXR γ マウスの骨格筋では基底状態での血糖降下作用が増大している可能性が示された。

4. 考察 まとめ

RXR γ マウスおよび DN-RXR γ マウスさらに FOXO1 マウスを用いた *In vitro* の解析により FOXO1 は RXR/LXR を介する SREBP1c の遺伝子活性化を抑制する事を明らかにした。また RXR γ の過剰発現により、SREBP1c の発現増加に伴い、筋肉内脂肪量の増加が観察された。筋肉内脂肪は、肥満者や糖尿病患者で量が増大し、また、運動選手の骨格筋でも増大していることが知られている。RXR γ の発現増加が骨格筋の糖代謝を変動させるという実験結果から、RXR γ マウスでは耐糖能やインスリン感受性が変化している可能性が想定された。興味深いことに、RXR γ マウスではグリコーゲン合成の促進が認められ、また耐糖能が亢進していた。骨格筋に RXR γ を過剰発現させると筋肉内脂肪およびグリコーゲン合成が増加し、血糖値の低下に寄与していると考えられた。今後、さらなる分子メカニズムの解明により骨格筋機能保持の分子機構が明らかになると、これらをターゲットとした新しい創薬の可能性の提案を目指したい。

5. 発表論文、参考文献

Y. Kamei, S. Miura, T. Suganami, F. Akaike, S. Kanai, S. Sugita, A. Katsumata, H. Aburatani, O. Ezaki, and Y. Ogawa. Regulation of SREBP1c gene expression in the skeletal muscle: role of RXR/LXR and FOXO1. *Endocrinology* 149:2293-2305, 2008.

背景

図1

骨格筋 人体で最大の組織



- ・ エネルギー代謝
- ・ 糖取り込み
- ・ 運動

適度な運動は肥満や糖尿病を防ぐ

寝たきり、ギプス固定、絶食、1型糖尿病などにより筋萎縮が生じる。

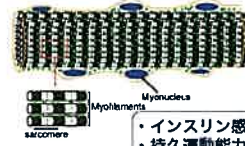


骨格筋機能の保持は生活習慣病予防に重要

骨格筋に着目して研究を行う。

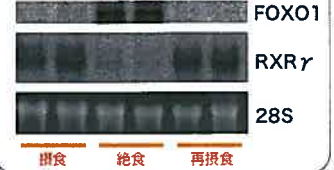
RXR γ による筋肉内脂肪の形成

適正な筋肉内脂肪量は骨格筋機能維持に必要である。



- ・ インスリン感受性
- ・ 持久運動能力

核内受容体のうち、絶食によりRXR γ はFOXO1と逆の発現パターンを示した。

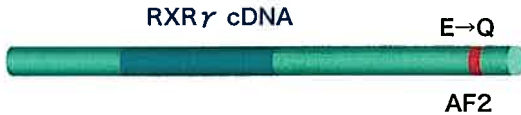


LXR/RXR/FOXO1によりSREBP1c遺伝子(筋肉内脂肪合成)が発現調節される(?)

RXR γ のdominant negative変異体

図3

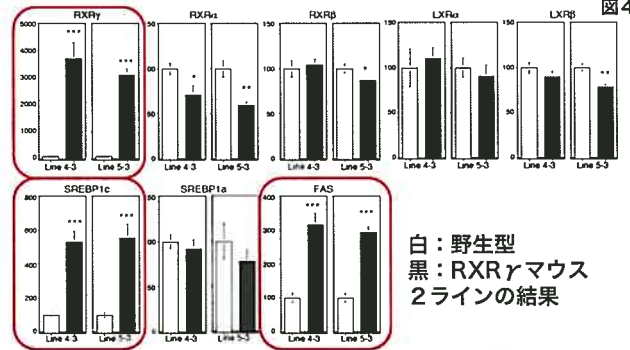
核内受容体に保存されたAF2領域に変異を加えることによりRXR γ のdominant negative変異体が出来ることが期待される。



RXR γ のAF2領域のEをQに変異させたリガンドは結合するが、コアアクチベーターが結合せず、転写活性化が起こらないと考えられる。(RXR α では報告がある)

RXR γ マウス(遺伝子発現)

図4

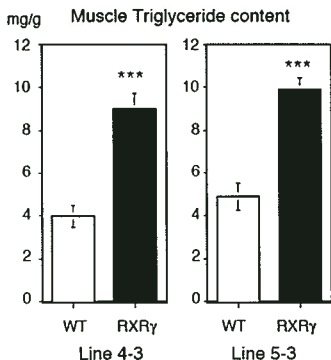


白：野生型
黒：RXR γ マウス
2ラインの結果

RXR γ マウスで、RXR γ 、SREBP1c、FAS mRNAの発現が増加した。

RXR γ マウス(骨格筋中トリグリセリド量)

図5



2ラインの結果

RXR γ マウス(黒バー)は骨格筋中トリグリセリド量が増加した。

まとめ(図)

図6

