

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2012～2014

課題番号：24680072

研究課題名(和文)細胞内脂肪酸組成制御機構の解明と高次脳機能および精神疾患における役割

研究課題名(英文)Elucidation of the regulatory mechanism of fatty acid composition in the cell and its role in brain function and mental disease

研究代表者

松坂 賢 (Matsuzaka, Takashi)

筑波大学・医学医療系・准教授

研究者番号：70400679

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 20,800,000円

研究成果の概要(和文)：脂肪酸伸長酵素Elovl6の脳における役割を解析した。Elovl6欠損マウスは野生型マウスに比べて脳重量が増加し、記憶・学習、不安、意欲、運動協調性などの行動に異常が認められた。Elovl6欠損マウスの脳ではリン脂質構成脂肪酸分子種の変化が認められ、海馬では神経新生の減少とシナプスの異常が認められた。中枢神経特異的Elovl6欠損マウスでも脳重量の増加が認められ、海馬初代培養では、アストロサイトの増殖亢進とニューロンの樹状突起の伸長および突起数の増加が認められた。したがって、Elovl6は脳の発達・成熟や精神・神経疾患の発症に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We analyzed the role of fatty acid elongase Elovl6 in brain by using Elovl6 deficient mice and brain-specific Elovl6 deficient mice. Elovl6 deficiency in brain caused decreased the relative content of stearate (C18:0) and increased the relative content of palmitate (C16:0) compared to control. The weight of the brain was significantly heavier in Elovl6 deficient mice than in wild-type mice. Mutant hippocampus exhibited decreased neural precursors and spine density. Memory impairment, enhanced anxiety and decreased motivation were observed in Elovl6 deficient mice. Moreover, Elovl6 deficiency increased proliferation and differentiation of astrocyte and neuron in primary hippocampal culture cells. Thus, Elovl6 is crucial for the development and function of the central nervous system.

研究分野：代謝内分泌学

キーワード：脂肪酸 脳

1. 研究開始当初の背景

現代社会では、車や交通の発達による運動不足、脂質や炭水化物の多い欧米化した食事、複雑な人間関係や多忙・仕事から来るストレスなどにより、肥満や糖尿病、動脈硬化性疾患に代表される生活習慣病とともに、気分障害、不安障害、統合失調症といった社会的に重大な精神疾患が急増している。糖尿病患者ではうつ病の発症リスクが増加すること、逆に慢性のうつや不安障害のある人や統合失調症患者では運動不足や過食が見られ、肥満や虚血性心疾患の発症リスクが高いことなどが報告されていることから、生活習慣病と精神疾患は互いに影響している可能性もあり、精神疾患の発症要因や病態を、生活習慣病と同様に代謝・栄養・内分泌学的視点から解析することが重要であると考えられるが、その共通病態や分子メカニズムについては不明な点が多い。

脂肪酸の代謝異常は肥満や糖尿病、動脈硬化などの原因となり、生活習慣病を引き起こす。しかし一方で、脂肪酸は生体にとって必要不可欠な栄養素であり、あらゆる生命現象に関与する。脳は他の組織に比べて多彩で豊富な脂質を含み、中枢神経系における脂質の量的・質的变化は、細胞の機能に大きな影響を及ぼす。例えば、ドコサヘキサエン酸(DHA)やエンコサペンタエン酸(EPA)などの多価不飽和脂肪酸の投与が、統合失調症やうつ病を改善することや、アラキドン酸の摂取が老化に伴う記憶・学習低下を改善することが報告されており、脳機能の維持における多価不飽和脂肪酸が示されている。一方、飽和および一価不飽和脂肪酸は神経系でその合成活性が高く、脳や神経細胞で重要な役割を担うと考えられるが、その生理的意義には不明な点が多い。

Elongation of very long chain fatty acids member 6 (Elovl6)は脂質合成転写因子SREBPの標的遺伝子として代表者がクローニングした脂肪酸伸長酵素であり、炭素数12~16の飽和・一価不飽和脂肪酸を基質とし、炭素数18以上の長鎖脂肪酸の合成に重要である。我々はElovl6欠損マウスを作製し、Elovl6欠損マウスでは脳重量の増加と記憶学習の障害、不安の亢進、運動協調性の低下など様々な行動異常が認められることを見出した。したがって、Elovl6は中枢神経系においてその機能維持に必須であり、Elovl6による脂肪酸組成の制御が脳・神経系の形成や個体の行動に重大な影響を与えているようである。

2. 研究の目的

そこで本研究では、Elovl6欠損による脳機能異常の実態を明らかにし、脳におけるElovl6の役割を解明し、健やかな脳の発達・維持や、精神・神経疾患の予防や治療に貢献することを目標とした。

3. 研究の方法

(1) Elovl6欠損マウスの脳の組織学的解析:胎生期から成体の各発生段階における野生型マウスとElovl6欠損マウスの脳の組織切片を作製し、HE染色、ゴルジ染色、神経マーカーMAP2およびグリアマーカーGFAPを用いた免疫染色により、神経とグリアの数や局在、分化・成熟、神経新生、細胞死について比較解析し、脳重量の増加や行動異常との関連を検証した。

(2) Elovl6欠損マウスの行動解析:野生型マウスおよびElovl6欠損マウスに対してオープンフィールドテスト、回転棒試験、モリス水迷路、ステップスルー試験、高架式十字迷路、強制水泳試験を行い、Elovl6の欠損が情動行動、運動協調性、記憶・学習機能、不安、意欲におよぼす影響を検討した。

(3) Elovl6欠損マウスの脳の遺伝子発現解析:Elovl6欠損マウスの脳の形態的・機能的異常に深く関与すると考えられる脳部位の遺伝子発現プロファイルをマイクロアレイにて網羅的に検索し、Elovl6欠損の影響が強く反映される代謝パスウェイやシグナル伝達経路を抽出し、脳の形態的・機能的異常や行動異常との関連を解析した。

(4) Elovl6欠損マウスの脳の脂質メタボローム解析:上記の解析によりElovl6欠損マウスで変化が認められた脳部位をサンプルとして脂質メタボローム解析を行い、Elovl6の欠損による脂肪酸組成の変化が強く反映されている脂質分画を検索した。

(5) 海馬初代培養による神経、アストロサイトの機能解析:野生型およびElovl6欠損マウスの海馬から細胞を単離し初代培養を行い、その形態的・機能的変化を解析した。

4. 研究成果

Elovl6欠損マウスに加えて中枢神経特異的Elovl6欠損マウスを作製し、高次脳機能におけるElovl6の生理的・病態生理的役割を解析した。Elovl6欠損マウスの大脳皮質や海馬の脳構造に異常は認められなかったが、海馬におけるアストロサイトの増加、海馬歯状回における神経新生の減少、海馬顆粒細胞層における樹状突起スパインの減少が認められた。質量顕微鏡法を用いて、Elovl6欠損マウスの脳で変化する脂質の種類とその構成脂肪酸分子種、局在を分析したところ、白質のリン脂質構成脂肪酸分子種のElovl6酵素活性に伴う変化が認められたが、電子顕微鏡によるミエリンの形態観察およびウエスタンブロットによるミエリン構成タンパク発現分析からは脱髄やミエリン過形成といった所見は認められなかった。神経伝達速度などの神経機能への影響を今後解析する。さらに、Elovl6 floxマウスとNestin-Creマウスを交配し、中枢神経特異的Elovl6欠損マウスを作製した。Elovl6欠損マウスと同様に、中枢神経特異的Elovl6欠損マウスでも脳重量の増加が認められた。Elovl6欠損による脳

重量増加の原因を調べるために、胎児海馬由来のニューロンとアストロサイトの共培養を行ったところ、中枢神経特異的 Elov16 欠損マウスではコントロールである flox マウスに比べてアストロサイトの著明な増殖亢進とニューロンの樹状突起の伸長および突起数の増加が認められた。一方、ニューロン単独の培養では flox と中枢神経特異的 Elov16 欠損マウスのニューロンの分化、成熟度に差は認められなかった。したがって、Elov16 の欠損がアストロサイトの増殖亢進や機能変化を引き起こし、その結果ニューロンの分化や成熟に影響を与えている可能性が示唆される。これらの結果から、Elov16 による脂肪酸組成の制御が脳の発達・成熟や精神・神経疾患の発症にきわめて重要な役割を果たしていることが明らかとなった。今後、ニューロン、アストロサイト、オリゴデンドロサイトにおいて Elov16 欠損により変化する脂質の特定とその役割、Elov16 により制御されるグリア伝達物質の同定、脂肪酸代謝異常とグリア神経相互作用のリンクに着目して解析を進める。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 8 件)

(1) Nakagawa Y, Satoh A, Yabe S, Furusawa M, Tokushige N, Tezuka H, Mikami M, Iwata W, Shingyouchi A, Matsuzaka T, Kiwata S, Fujimoto Y, Shimizu H, Danno H, Yamamoto T, Ishii K, Karasawa T, Takeuchi Y, Iwasaki H, Shimada M, Kawakami Y, Urayama O, Sone H, Takekoshi K, Kobayashi K, Yatoh S, Takahashi A, Yahagi N, Suzuki H, Yamada N, Shimano H. Hepatic CREB3L3 Controls Whole-Body Energy Homeostasis and Improves Obesity and Diabetes. *Endocrinology*. 155(12):4706-19, 2014. 査読有

(2) Nie T, Matsuzaka T, Suzuki M, Nakano Y, Hui Z, Yokoo T, Suzuki-Kemuriyama N, Kuba M, Okajima Y, Takeuchi Y, Kobayashi K, Iwasaki H, Yatoh S, Takahashi A, Suzuki H, Sone H, Shimada M, Nakagawa Y, Yahagi N, Yamada N, Shimano H. Ablation of Elov16 protects pancreatic islets from high-fat diet-induced impairment of insulin secretion. *Biochem Biophys Res Commun*. 450(1):318-23, 2014. 査読有

(3) Sunaga H, Matsui H, Ueno M, Maeno T, Iso T, Syamsunarno MR, Anjo S, Matsuzaka T, Shimano H, Yokoyama T, Kurabayashi M. Deranged fatty acid composition causes pulmonary fibrosis in Elov16-deficient mice. *Nature communications* 4:2563, 2013.

(4) Izumida Y, Yahagi N, Takeuchi Y, Nishi M, Shikama A, Takarada A, Masuda Y, Kubota

M, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Iizuka Y, Itaka K, Kataoka K, Shioda S, Niijima A, Yamada T, Katagiri H, Nagai R, Yamada N, Kadowaki T, Shimano H. Glycogen shortage during fasting triggers liver-brain-adipose neurocircuitry to facilitate fat utilization. *Nature Communications*. 4:2316, 2013. 査読有

(5) Fujimoto Y, Nakagawa Y, Satoh A, Okuda K, Shingyouchi A, Naka A, Matsuzaka T, Iwasaki H, Kobayashi K, Yahagi N, Shimada M, Yatoh S, Suzuki H, Yogosawa S, Izumi T, Sone H, Urayama O, Yamada N, Shimano H. TFE3 Controls Lipid Metabolism in Adipose Tissue of Male Mice by Suppressing Lipolysis and Thermogenesis. *Endocrinology*. 154(10):3577-88, 2013. 査読有

(6) Naka A, Iida KT, Nakagawa Y, Iwasaki H, Takeuchi Y, Satoh A, Matsuzaka T, Ishii KA, Kobayashi K, Yatoh S, Shimada M, Yahagi N, Suzuki H, Sone H, Yamada N, Shimano H. TFE3 inhibits myoblast differentiation in C2C12 cells via down-regulating gene expression of myogenin. *Biochem Biophys Res Commun*. 430:2:664-669, 2012. 査読有

(7) Matsuzaka T, Atsumi A, Matsumori R, Nie T, Shinozaki H, Suzuki-Kemuriyama N, Kuba M, Nakagawa Y, Ishii K, Shimada M, Kobayashi K, Yatoh S, Takahashi A, Takekoshi K, Sone H, Yahagi N, Suzuki H, Murata S, Nakamuta M, Yamada N, Shimano H. Elov16 promotes nonalcoholic steatohepatitis in mice and humans. *Hepatology*. 56:6:2199-208, 2012. 査読有

(8) Iwasaki H, Naka A, Iida KT, Nakagawa Y, Matsuzaka T, Ishii KA, Kobayashi K, Takahashi A, Yatoh S, Yahagi N, Sone H, Suzuki H, Yamada N, Shimano H. TFE3 regulates muscle metabolic gene expression, increases glycogen stores, and enhances insulin sensitivity in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 302(7):E896-902, 2012. 査読有

[学会発表](計 17 件)

(1) 大野博、松坂賢、吉田恵里子、伏見友希、所司慶太、島野仁、「高次脳機能における脂肪酸伸長酵素 Elov16 の役割」、第 37 回日本分子生物学会年会、2014 年 11 月 27 日、パシフィコ横浜、神奈川。

(2) 吉田恵里子、松坂賢、大野博、伏見友希、所司慶太、島野仁、「脳神経系の形成と発達における脂肪酸伸長酵素 Elov16 の役割」、第 37 回日本分子生物学会年会、2014 年 11 月 27 日、パシフィコ横浜、神奈川。

(3) 伏見友希、松坂賢、大野博、吉田恵里子、藤万里子、飯田薫子、中川嘉、矢作直也、島野仁、「アストロサイトの代謝および機能における脂肪酸伸長酵素 Elov16 の役割」、第 37

回日本分子生物学会年会、2014年11月27日、パシフィコ横浜、神奈川県。

(4) 松坂賢、中野雄太、趙会、唐寧、鈴木真璃衣、中川嘉、嶋田昌子、武内謙憲、岩崎仁、小林和人、矢藤繁、高橋昭光、矢作直也、鈴木浩明、山田信博、島野仁。第35回日本肥満学会「脂肪酸伸長酵素 Elovl6 の欠損は db/db マウスの 2 型糖尿病の発症・進展を抑制する」2014年10月25日、フェニックスシーガイアリゾート コンベンションセンター、宮崎

(5) Takashi Matsuzaka, Yuta Nakano, Zhao Hui, Marii Suzuki, Tang Nie, Yoshimi Nakagawa, Naoya Yahagi, Nobuhiro Yamada, Hitoshi Shimano. "Deletion of Elovl6 ameliorates hyperglycemia in db/db mice." 9th Metabolic Syndrome, Type 2 Diabetes and Atherosclerosis Congress, September 13, 2014. Kyoto International Conference Center, Kyoto.

(6) 松坂賢、日本内分泌学会 第32回内分泌代謝学サマーセミナー「脂肪酸伸長酵素 Elovl6 による脂肪酸組成制御と生活習慣病」2014年7月10日~12日、富士レークホテル、山梨。

(7) 大野博、松坂賢、唐ネ、中川嘉、矢作直也、山田信博、島野仁。第46回日本動脈硬化学会総会・学術集会、「脂質合成転写因子 SREBP-1a トランスジェニックマウスは ob/ob マウスの肥満を抑制する」2014年7月11日、京王プラザホテル、東京。

(8) 大野博、松坂賢、唐ネ、中川嘉、嶋田昌子、岩崎仁、小林和人、高橋昭光、矢藤繁、矢作直也、鈴木浩明、山田信博、島野仁。第57回日本糖尿病学会年次学術集会『脂質合成制御転写因子 SREBP-1a トランスジェニックマウスの脂肪萎縮機序とそのエネルギー代謝におよぼす影響』(口頭発表) 2014年5月23日、大阪国際会議場

(9) 松坂賢、中野雄太、趙会、唐寧、鈴木真璃衣、中川嘉、嶋田昌子、武内謙憲、岩崎仁、小林和人、高橋昭光、矢藤繁、矢作直也、鈴木浩明、山田信博、島野仁。第57回日本糖尿病学会年次学術集会、「脂肪酸伸長酵素 Elovl6 の欠損は db/db マウスの糖尿病の発症・進展を抑制する」2014年5月22日、大阪国際会議場、大阪。

(10) 煙山(鈴木)紀子、松坂賢、所司慶太、加藤淳子、唐ネ、久芳素子、岩崎仁、小林和人、矢藤繁、石井清明、中川嘉、嶋田昌子、矢作直也、鈴木浩明、山田信博、島野仁。第34回日本肥満学会、「脂肪酸伸長酵素 Elovl6 欠損マウスにおける食餌嗜好性への影響」2013年10月12日、東京国際フォーラム、東京。

(11) 松坂賢、渥美綾香、唐寧、煙山紀子、久芳素子、中川嘉、嶋田昌子、小林和人、矢藤繁、高橋昭光、曾根博仁、矢作直也、鈴木浩明、中牟田誠、山田信博、島野仁。第34回日本肥満学会、「非アルコール性脂肪性肝

炎における脂肪酸伸長酵素 Elovl6 の役割」2013年10月11日、東京国際フォーラム、東京。

(12) 煙山(鈴木)紀子、松坂賢、所司慶太、加藤淳子、唐ネ、久芳素子、岩崎仁、小林和人、矢藤繁、石井清明、中川嘉、嶋田昌子、矢作直也、鈴木浩明、山田信博、島野仁。第86回日本内分泌学会学術総会「脂肪酸伸長酵素 Elovl6 欠損マウスはシヨ糖嗜好性が亢進する」2013年4月25日、仙台国際センター、宮城。

(13) 唐ネ、松坂賢、鈴木真璃衣、中野雄太、煙山(鈴木)紀子、久芳素子、岩崎仁、小林和人、矢藤繁、石井清明、中川嘉、嶋田昌子、矢作直也、鈴木浩明、山田信博、島野仁。第86回日本内分泌学会学術総会「膵β細胞における脂肪酸伸長酵素 Elovl6 の役割」2013年4月26日、仙台国際センター、宮城。

(14) Yuta Nakano, Takashi Matsuzaka, Nie Tang, Marii Suzuki, Noriko Suzuki-Kemuriyama, Motoko Kuba, Keita Shoshi, Tomotaka Yokoo, Yoshimi Nakagawa, Kiyooki Ishii, Masako Shimada, Hitoshi Iwasaki, Kazuto Kobayashi, Shigeru Yatoh, Akimitsu Takahashi, Naoya Yahagi, Hiroaki Suzuki, Nobuhiro Yamada, Hitoshi Shimano. 第35回日本分子生物学会年会、"Deletion of Elovl6 protects against the failure of pancreatic beta-cell mass and function in db/db mice." 2012年12月11日、マリンメッセ福岡、福岡。

(15) 松坂賢、島野仁。第11回ホスファチジルセリン研究会「生活習慣病における脂肪酸組成制御の重要性と脂肪酸伸長酵素 Elovl6 の役割」2012年11月16日、東京海洋大学、東京。

(16) Takashi Matsuzaka, Tang Nie, Noriko Suzuki-Kemuriyama, Motoko Kuba, Yoshimi Nakagawa, Kiyooki Ishii, Masako Shimada, Kazuto Kobayashi, Shigeru Yatoh, Akimitsu Takahashi, Hirohito Sone, Naoya Yahagi, Hiroaki Suzuki, Makoto Nakamuta, Nobuhiro Yamada, Hitoshi Shimano. 第9回国際糖尿病連合西太平洋地区会議・第4回アジア糖尿病学会学術集会 "Elovl6 promotes nonalcoholic steatohepatitis in mice and humans" 2012年11月26日、国立京都国際会館、京都。

(17) 松坂賢、齋藤亮、唐澤直義、松森理恵、煙山紀子、中川嘉、石井清朗、岩崎仁、小林和人、矢藤繁、高橋昭光、曾根博仁、鈴木浩明、矢作直也、山田信博、島野仁。第55回日本糖尿病学会年次学術集会、「マクロファージ泡沫化および動脈硬化における脂肪酸伸長酵素 Elovl6 の役割」(口頭発表) 2012年5月19日、パシフィコ横浜

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.u-tsuba-endocrinology.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松坂 賢 (MATSUZAKA TAKASHI)

筑波大学・医学医療系・准教授

研究者番号：70400679