

研究報告書

「栄養摂取バランスの崩れによる恒常性維持機構の破綻メカニズムの解明」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 25 年 10 月～平成 29 年 3 月

研究者: 岩部 真人

1. 研究のねらい

地球上の全ての生物の進化は、飢餓や低栄養に対する適応の歴史であり、人類も含め、生物の寿命はこれらの環境因子によって規定されてきた。実際、飢餓や低栄養、それに伴う免疫力の低下による感染症がヒトの死因の上位を占めていたことは記憶に新しい。一方で、これら外界からのストレスを何とかして克服し、生命を紡ぐために、生物は長い年月をかけて飢餓や低栄養に対する様々な恒常性維持機構、この場合、“飢餓に対する代償システム”（≡ 儉約シグナル）を勝ち取ってきた。ところが20世紀後半より、人類は歴史上未経験の未曾有の過栄養の時代を迎え、この過栄養が全身での長期にわたる免疫反応を基盤とした生活習慣病を引き起こし、その結果、心血管疾患、悪性腫瘍が現代人の主な死因となり、寿命を短縮している。これまでの進化の過程上、未体験であるがゆえに、生物にはこの過栄養に対する代償システムはほとんど備わっておらず、栄養摂取バランスの破綻に対し、現代人の恒常性維持機構、この場合、“栄養に対する代償システム”は容易に崩壊してしまう。そのため、このような短期間の劇的な栄養・環境の変化によりもたらされる問題を抜本的に解決するためには、“栄養に対する代償システム”の根源を俯瞰的に理解し、生体内における恒常性の破綻メカニズムの解明が不可欠である。

この“栄養に対する代償システム”の破綻メカニズムの一部として、栄養摂取バランスの崩れに伴って、脂肪細胞から分泌される生理活性物質アディポネクチンの低下、さらに全身の各組織におけるアディポネクチン受容体 (AdipoR) の低下が、メタボリックシンドローム・2 型糖尿病激増の主因になっていることが国内外の研究より明らかになっている。さらに私は、アディポネクチン/ AdipoR が、カロリー制限や運動により活性化される健康長寿シグナルを介して代謝作用を高めると共に、細胞内ストレスを低減させるなど、過栄養に対する恒常性維持機構を有することを明らかにし、報告してきた (*Nature Med.* 2007; *Nature* 2010)。

本研究課題では、栄養に対する代償システムの恒常性維持機構をアディポネクチンとその受容体という切り口を中心として、その破綻メカニズムと破綻により生じる疾患の分子メカニズムを解明し、先制医療実現への貢献を目指した。

2. 研究成果

(1) 概要

我が国では、糖尿病とその合併症の患者数は増加の一途をたどり、平成 26 年国民健康・栄養調査によると、糖尿病が強く疑われる人の割合は、男性で 15.5%、女性で 9.8%にものぼる。従って、より一層効果的な糖尿病・生活習慣病対策が必要であり、より根本的な治療に向けた研究推進が必須であり、社会的要請も高い。

本研究課題では、研究課題(1)「免疫細胞・実質細胞における“栄養に対する代償システム”破綻メカニズムの解明」研究課題(2)「栄養摂取バランスの崩れにより発症する動脈硬化症の分子メカニズムの解明」研究課題(3)「栄養摂取バランスの崩れにより発症する悪性腫瘍の分子メカニズムの解明」について、アディポネクチンとその受容体である AdipoR を切り口とし、“栄養に対する代償システム”の破綻メカニズムと栄養摂取バランスの破綻により生じる動脈硬化、悪性腫瘍の発症分子メカニズムを解明した。さらにそのメカニズムの解明の過程において、AdipoR 活性化低分子化合物の取得に成功した。この化合物は、経口投与可能で、AdipoR に直接結合し、実際に抗糖尿病作用を発揮した。また、“栄養に対する代償システム”が崩壊した AdipoR 欠損マウスは短命であり、AdipoR 活性化低分子化合物は過栄養に対する代償作用を強く発揮し、生活習慣病モデルマウスの短くなった寿命を回復することを明らかにした(*Nature* 503: 493, 2013)。この化合物をシーズとして、臨床応用に向けたヒトへの最適化は、重要な課題である。そのためのツールとしてもさらに、AdipoR の機能解明においても AdipoR の立体構造情報は非常に有用であり、世界中の研究機関によりその解明が急がれていたがこれまで明らかになっていなかった。その背景として、AdipoR が7回膜貫通型受容体でありながら G タンパク質共役受容体とは逆の膜トポロジーを持つため結晶化が最難関であったことが挙げられる。従ってあらゆる膜タンパク質生産技術を駆使し、AdipoR の立体構造を決定した(*Nature* 520: 312, 2015)。このことより、恒常性維持機構における AdipoR の意義や機能解明の研究推進に強力なツールを得ただけでなく、AdipoR の立体構造情報に基づく、AdipoR 活性化低分子化合物のヒトへの最適化の加速も期待できる成果が得られた。

(2) 詳細

研究課題(1)

「免疫細胞・実質細胞における“栄養に対する代償システム”破綻メカニズムの解明」

アディポネクチン/AdipoR シグナルを増強し、代謝能の質を変化させることは、過栄養により破綻した個体の代謝環境を健常化すると考えられる。従って、AdipoR 活性化薬は、メタボリックシンドローム・2型糖尿病・動脈硬化の根本的な治療薬となることが強く期待され、その開発が待たれていた。東京大学の創薬オープンイノベーションセンターの化合物ライブラリーなどをもとにスクリーニングし、AdipoR 活性化低分子化合物 (Adiponectin Receptor Agonist; AdipoRon) の取得に成功した。AdipoRon は、AdipoR に直接結合し、AMPK を活性化、ミトコンドリア機能を上昇させ、個体レベルでは AdipoR を介して抗糖尿病作用を発揮することを明らかにした(*Nature* 503: 493-498, 2013) (図1)。

さらに、AdipoR 活性化低分子化合物 (Gain of function) と各組織特異的 AdipoR 欠損マウス (Loss of function) をツールとして駆使し、免疫細胞における AdipoR1 が、過栄養により惹起されるインフラマソーム活性を抑制すること、一方で実質細胞における AdipoR1 および AdipoR2 を介し AMPK/SIRT1/PPAR 経路を活性化し、実質細胞-免疫細胞間での恒常性の維持に寄与し、最終的には全身でのインスリン抵抗性を改善することを明らかにした(未発表)。

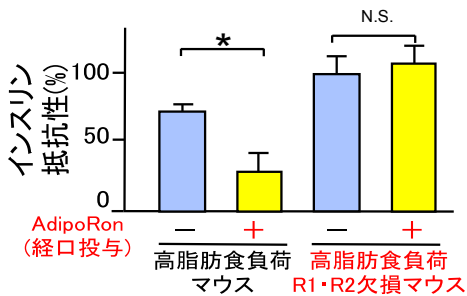
研究課題(2)

「栄養摂取バランスの崩れにより発症する動脈硬化症の分子メカニズムの解明」

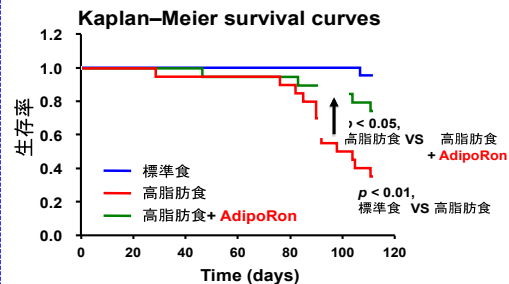
図1

アディポネクチン受容体活性化低分子化合物 (AdipoRon, Adiponectin Receptor Agonist) の取得に成功

**AdipoRonは、
インスリン抵抗性を改善する**



AdipoRonの経口投与により、高脂肪食負荷によって短くなった寿命は改善した



Nature, 503, 493-499, 2013

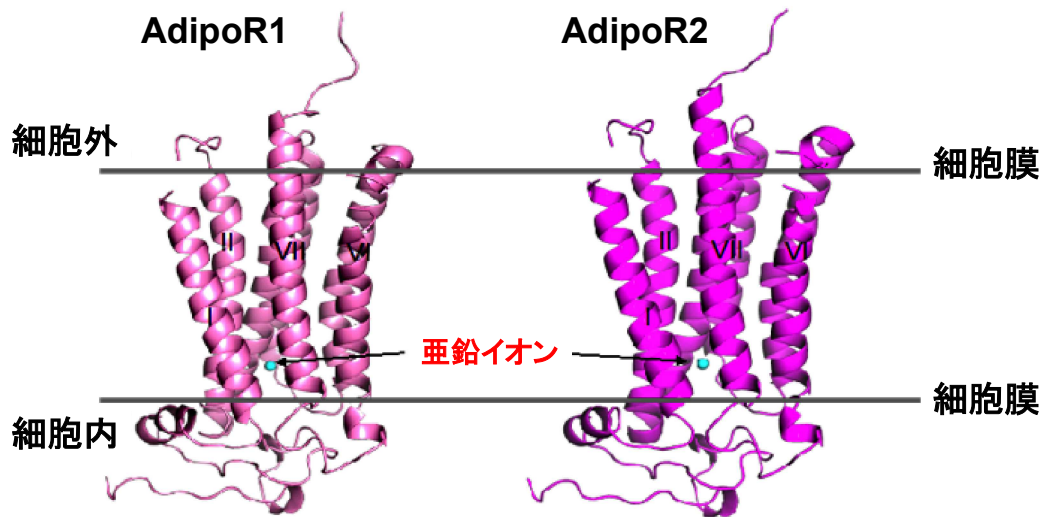
栄養摂取バランスの崩れにより発症する動脈硬化症の原因の一部として、血中のアディポネクチンレベルの低下が関与していることが、国内外の臨床研究を含めた研究より明らかになっている。しかしながら、その作用における AdipoR の意義およびその詳細なメカニズムについては、不明であった。

高脂肪食負荷マウスおよび動脈硬化モデルの ApoE 欠損マウスの血管(実質細胞)において AdipoR2 の発現が低下し、さらに、抗動脈硬化作用を有する PPAR γ 、酸化ストレス消去にかかわる SOD1 の発現が有意に低下し、肥満・2 型糖尿病などの病態の血管では AdipoR2 が病態生理的に重要な役割を果たしていることが明らかになった(未発表)。また、Loss of function の実験系として、血管内皮特異的 AdipoR2 欠損マウスを作製し解析を行ったところ、このマウスでは、カフ障害による内膜肥厚が増悪することが分かり、血管内皮における AdipoR2 が抗動脈硬化作用を有することが明らかになった(未発表)。一方で、AdipoR1 欠損マウスの骨髓を移植したマウスでもカフ障害による内膜肥厚が増大することが分かり、骨髓における AdipoR1 が抗動脈硬化作用を有することも明らかになった(未発表)。さらに、AdipoR 活性化低分子化合物は、免疫細胞における AdipoR1 と実質細胞における AdipoR2 を介し、抗動脈硬化作用を有することも明らかにした(未発表)。

これまで、AdipoR は、G タンパク質共役受容体(GPCR)とは、膜への配向が逆である 7 回膜貫通型の受容体であると推測していた。GPCR は、G タンパク質との複合体の構造解析などにより、その活性化機構が明らかになりつつある一方で、AdipoR の構造は未知であった。従って、AdipoR の立体構造を明らかにすることは、その構造から AdipoR の新たな機能解明のみならず、構造ベース創薬への応用にも展開が広がると考えてきた。AdipoR の発現系および精製法を構築し、さらに AdipoR の構造を認識する抗体を作製し、AdipoR と抗体との複合体を脂質メソフェーズ法により結晶化した。得られた結晶から AdipoR1 および AdipoR2 の結晶構造をそれぞれ分解能 2.9 Å および分解能 2.4 Å で決定することに成功し、一連の立体構造解析から、AdipoR は、GPCR とは全く異なった構造及び機能を持つことが明らかになった(Nature 520: 312-316, 2015)(図2)。

図2

AdipoRの立体構造を明らかにした



Nature, 520, 312-316, 2015

研究課題(3)

「栄養摂取バランスの崩れにより発症する悪性腫瘍の分子メカニズムの解明」

実験的・疫学的研究により過栄養・飽食の状態では、哺乳類など多臓器を有するような生物を含め、恒常性維持機構の破綻による老化が促進し、その結果、個体寿命が短縮することが分かっている。観察事実として栄養状態と老化の速度には深い関係があり、これには各臓器での様々な栄養素に対する代謝・ストレス応答などの生体反応が存在し、それらが統合されて個体の寿命の決定に至っているものと考えられる。

大変興味深いことに、“栄養に対する代償システム”が崩壊した AdipoR 欠損マウスは短命であることが明らかになった(*Nature* 503: 493-498, 2013)。さらに、その寿命が短くなる原因の一部として、AdipoR 欠損マウスでは悪性腫瘍(肝細胞癌、大腸癌等)の頻度が増加することが分かり、その詳細なメカニズムの一部として、腸内細菌叢が関与していることを明らかにした(未発表)。さらに、AdipoR 活性化低分子化合物は、過栄養に対する代償作用を強く発揮し、生活習慣病モデルマウスの短くなった寿命を回復することも明らかにした(*Nature* 503: 493-498, 2013)(図1)。

3. 今後の展開

現代社会においては、過食・運動不足による肥満を病態基盤とするメタボリックシンドローム・糖尿病・心血管疾患・悪性腫瘍が激増しており、そのような現状に対し、代謝経路制御を基盤とした健康長寿を実現する方法が世界中で待望されている。これまでに、肥満に伴う AdipoR の作用低下が、メタボリックシンドローム・2 型糖尿病の原因になっていることを明らかにしてきたが、本研究課題の遂行により、AdipoR 経路の活性化が抗動脈硬化作用、

悪性腫瘍抑制作用を発揮することを明らかにした。さらに、そのメカニズム解明の過程で、先制医療のコンセプトではなく、確かな手がかりと方法論として、AdipoR 活性化低分子化合物の取得と AdipoR の立体構造解析に成功した。得られた AdipoR の立体構造情報は、AdipoR の新たな機能解明に繋がるのみならず、AdipoR 活性化低分子化合物の臨床応用に向けたヒトへの最適化を推進し、その成果は、新規糖尿病治療薬さらにはその合併症治療薬の開発を加速することが期待される。

【研究成果の科学技術への波及効果】

AdipoR は、GPCR とは逆向きのトポロジーを持つ 7 回膜貫通型受容体であり、新規の受容体ファミリーを形成している。構造生命科学分野の発展と貢献により、最近では、高難度とされていた GPCR の立体構造が徐々に明らかとなっており、その構造解析情報も次第に蓄積されつつある一方で、AdipoR は、GPCR よりさらに結晶化が難しく、構造解析は極めて困難であった。AdipoR は新規の受容体ファミリーであるがゆえに、分子レベルでの活性制御メカニズムやシグナル伝達機構等、未知の部分も多く残されていたが、AdipoR の立体構造解析の成功により、新たな受容体ファミリーの全容を明らかに出来つつある。今回の研究成果は、新規の生活習慣病治療薬への開発のみならず、新規の膜貫通型受容体研究の学術的発展に貢献することも期待される。

【研究成果の社会・経済への波及効果】

糖尿病が強く疑われる人の割合は、男性で 15.5%、女性で 9.8% (平成 26 年国民健康・栄養調査) にのぼり、医療費の面からも、糖尿病・生活習慣病の克服は、活力ある高齢化社会の実現に向けて、行政上極めて重要な課題である。本研究課題の成果は、これまでにない代謝改善作用メカニズムを有した副作用の少ない新規メタボリックシンドローム・糖尿病・動脈硬化治療薬の開発の道を切り開き、経済的な貢献をもたらす可能性があると考えている。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

本研究課題では、アディポネクチンとその受容体である AdipoR を切り口とし、“栄養に対する代償システム”の破綻メカニズムと栄養摂取バランスの破綻により生じる動脈硬化、悪性腫瘍の発症分子メカニズムを解明することができた。また、研究は予想以上に進展し、AdipoR の機能解明に有用となる AdipoR 活性化低分子化合物及び AdipoR の立体構造情報の取得に成功し、先制医療の実現に向けた新規生活習慣病治療薬となるシーズの創出、さらには臨床応用に向けた基盤となる技術の確立にも展開でき、本領域の戦略目標と照らし合わせても、研究目的は概ね達成できたと思われる。また、新たな膜貫通型受容体研究の学術的意義、生活習慣病抑制に向けた社会的意義を持つなど、様々な波及効果も期待できると考えている。

研究代表者自身は代謝学が専門でありながら、循環器領域、がん領域のテーマでも予想以上に研究が進展できたと考える。その理由は、このさきがけ領域【生体における動

的恒常性維持・変容機構の解明と制御】の研究者が、それぞれの専門分野の最先端を走っており、それぞれの専門分野の垣根を越えて、一同に集結した「さきがけラボ」であったことが挙げられる。分野を跨いだディスカッションは時には思いも寄らないアイデアを生み、個々の研究者が得意とする専門性の高い高度な技術の共有は、一個人では突破できなかった壁を乗り越える大きな推進力となり、また複数のテーマが共同研究といった形に発展した。研究実施期間終了後も、このさきがけ領域により築かれたネットワークは、より学術的に高度に発展・拡大する体制を取り、今後も更なる研究成果を出し続ける新たな学問領域の創成が見込まれ、その挑戦に、研究代表者自身も貢献したいと考える。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

本研究はアディポネクチンとその受容体である AdipoR を切り口とし、“過栄養に対する代償システム”の破綻とその結果により生じる動脈硬化ならびに悪性腫瘍の発症メカニズムの解明を目指した。AdipoR 活性化低分子化合物(Adiponectin Receptor Agonist; AdipoRon)の開発に成功し、AdipoRon が AdipoR に直接結合し、AMPK を活性化、ミトコンドリア機能を上昇させること、個体レベルでは AdipoR を介して抗糖尿病作用を発揮することを明らかにして、成果を論文として発表した。また、AdipoR の結晶構造を決定することに成功し、GPCR とは全く異なった構造及び機能を持つことも論文として発表した。さらに AdipoR 欠損マウスは短命であり、悪性腫瘍(肝細胞癌、大腸癌等)の頻度が増加することが分かり、AdipoR 活性化低分子化合物が寿命を回復することも論文発表している。今後の AdipoR の新たな機能解明研究および AdipoR 活性化低分子化合物の臨床応用が期待される。

成果としての論文発表、学会発表、特許の取得が多数あり、今後の活躍が十分に期待できる。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. Okada-Iwabu M*, Yamauchi T*, Iwabu M*, Honma T, Hamagami K, Matsuda K, Yamaguchi M, Tanabe H, Kimura-Someya T, Shirouzu M, Ogata H, Tokuyama K, Ueki K, Nagano T, Tanaka A, Yokoyama S and Kadowaki T. A small-molecule AdipoR agonist for type 2 diabetes and short life in obesity. *Nature* 503, 493–498, 2013 (*These authors contributed equally to this work.)
2. Kadowaki T, Yamauchi T, Okada-Iwabu M and Iwabu M. Adiponectin and its receptors: Implications for reduction of obesity-associated diseases and prolongation of longevity. *The Lancet Diabetes and Endocrinology* 2, 8–9, 2014
3. Iwabu M, Okada-Iwabu M, Yamauchi T, Kadowaki T. Adiponectin/adiponectin receptor in disease and aging. *npj Aging and Mechanisms of Disease* 1, 15013, 2015
4. Tanabe H, Motoyama K, Ikeda M, Wakiyama M, Terada T, Ohsawa N, Hosaka T, Hato M, Fujii

Y, Nakamura Y, Ogasawara S, Hino T, Murata T, Iwata S, Okada-Iwabu M, Iwabu M, Hirata K, Kawano Y, Yamamoto M, Kimura-Someya T, Shirouzu M, Yamauchi T, Kadowaki T and Yokoyama S. Expression, purification, crystallization, and preliminary X-ray crystallographic studies of the human adiponectin receptors, AdipoR1 and AdipoR2. *J Struct Funct Genomics*. 16, 11-23, 2015

5. Tanabe H, Fujii Y, Okada-Iwabu M*, Iwabu M*, Nakamura Y*, Hosaka T, Motoyama K, Ikeda M, Wakiyama M, Terada T, Ohsawa N, Hato M, Ogasawara S, Hino T, Murata T, Iwata S, Hirata K, Kawano Y, Yamamoto M, Kimura-Someya T, Shirouzu M, Yamauchi T, Kadowaki T and Yokoyama S. Crystal structures of the human adiponectin receptors. *Nature* 520, 312-316, 2015 (*These authors contributed equally to this work.)

(2)特許出願

研究期間累積件数:3件

1.

発明者: 門脇 孝, 山内 敏正, 岩部 美紀, 岩部 真人, 横山 茂之, 本間 光貴

発明の名称: アディポネクチン受容体活性化化合物

出願人: 東京大学

出願日: 2014/9/30

出願番号: PCT/JP2014/076185

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

主要な学会発表(招待講演)

1. 岩部 真人 第36回日本炎症・再生医学会(2015年7月21日 東京)「腸内細菌と代謝疾患」(招待講演)
2. 岩部 真人 フォーラム富山 創薬 第42回研究会(2015年9月15日 富山)「アディポネクチン受容体アゴニストの開発」(招待講演)
3. MASATO IWABU The 8th Asia-Oceania Conference on Obesity (2015年10月4日 Nagoya, Japan)「Crystal structures of the human adiponectin receptors」(招待講演)
4. 岩部 真人 高度医療都市を創出する未来技術国際シンポジウム 生命医用工学の新展開(2016年3月10日 岡山)「アディポネクチン受容体シグナル伝達機構の解明と創薬への展開」(招待講演)
5. 岩部 真人 第59回日本糖尿病学会年次学術集会(2016年5月20日 京都)「アディポネクチン受容体をターゲットにした運動模倣薬開発への挑戦」(招待講演)

受賞

1. 岩部 真人 第17回日本臨床分子医学会学術奨励賞(2014年4月12日)「アディポネクチン受容体活性化経路の運動模倣効果の検討と糖尿病治療薬開発への応用」
2. 岩部 真人 平成28年度 Front Runner of Future Diabetes Research に関する研究助成最優秀賞(2016年7月24日)「アディポネクチン受容体を介する運動模倣効果の検討」

著作物

1. 岩部 真人, 山内 敏正, 岩部 美紀, 門脇 孝:【糖尿病と合併症(前篇) 糖尿病】「2 型糖尿病、インスリン抵抗性 アディポネクチンの生理学と創薬への期待」:最新医学(最新医学社)70 巻 3 月増刊, 564-571, 2015
2. 岩部 真人, 山内 敏正, 岩部 美紀, 門脇 孝:【臓器連関による代謝制御を中心とした恒常性維持と生活習慣病】「アディポカインによる代謝制御と生活習慣病」:内分泌・糖尿病・代謝内科(科学評論社)42 巻 5 号, 311-315, 2016
3. 岩部 真人, 山内 敏正, 岩部 美紀, 門脇 孝:【特集 生活習慣病と栄養～カルシウム・ミネラル管理の側面より～】「アディポネクチン受容体を標的とした生活習慣病治療」:CLINICAL CALCIUM(医薬ジャーナル社)26 巻 3 号, 73-78, 2016
4. 岩部 真人, 山内 敏正, 岩部 美紀, 門脇 孝:【新時代の臨床糖尿病学(上)-より良い血糖管理をめざして-】「糖・エネルギー代謝制御因子 脂肪細胞・アディポカイン アディポネクチンの分泌機構と全身の作用」:日本臨床(日本臨床社)166-169, 2016
5. 岩部 真人, 山内 敏正, 岩部 美紀, 門脇 孝:【“運動”を科学する】「運動模倣薬の開発」:Medical Science Digest(北隆館)42 巻 1 号, 29-32, 2016

プレスリリース

1. 「アディポネクチン受容体を活性化して健康長寿を実現する内服薬の種を発見 -アディポネクチン受容体を活性化する内服薬が、運動と同様の効果をもたらし、メタボリックシンドロームや糖尿病の治療薬となることが期待-」, 東京大学, 2013 年 10 月 31 日
2. 「糖・脂質代謝に重要なアディポネクチン受容体の立体構造を解明 -メタボリックシンドローム・糖尿病治療薬の開発へ前進-」, 東京大学, 2015 年 4 月 9 日