

令和 7 年 5 月 15 日

## 海外特別研究員最終報告書

独立行政法人日本学術振興会 理事長 殿

採用年度 令和4年度

受付番号 202270017

氏 名 生島 芳子

海外特別研究員としての派遣期間を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。  
なお、下記及び別紙記載の内容については相違ありません。

### 記

1-1. 用務地（派遣先国名）用務地： Edinburgh （国名： イギリス ）

1-2. 研究課題名（和文）※研究課題名は申請時のものと変わらないように記載すること。

カロリー制限下における Adiponectin 分泌を介した骨髄脂肪の機能の解明

1-3. 派遣期間：令和 5 年 2 月 28 日 ～ 令和 7 年 2 月 27 日（ 731 日間）

1-4. 受入研究機関名及び部局名

受入研究機関名：The University of Edinburgh

部局名：William Cawthorn

## 入可)

## 【記載事項】

- 研究・調査実施状況及びその成果の発表・関係学会への参加状況等

留学受け入れ研究者であるエジンバラ大学 WP Cawthorn 博士は、ミシガン大学 OA MacDougald 教授の研究室在籍時に、

1. 骨髄脂肪が高いadiponectin産生能を有する
2. 白色脂肪と対照的にカロリー制限時に骨髄脂肪量が増加する
3. 骨髄脂肪がカロリー制限中の血中adiponectin濃度の上昇に大きく寄与している

ことを示して、主に糖代謝との関係性を切り口に、同教授や同時期に研究室に在籍した EL Scheller 博士と共に骨髄脂肪研究を切り開いてきた (*Cell Metabolism* 2014, *Nature Commun.*2020 その他)。そこで、Cawthorn 博士のもとで、カロリー制限時の Adiponectin 分泌を介した骨髄脂肪の機能を明らかにすることを目的として、博士課程大学院生の台湾医師 Dr. Kuan Chan-Chen とともに、カロリー制限下での adiponectin 全身欠損マウスの解析を主な研究テーマとして研究を進めた。

Adiponectin は脂肪細胞から分泌され、血中に最も多く存在する内分泌因子である。その血中濃度は肥満状態で低下し、カロリー制限や痩身状態で上昇することが知られており、我々のグループのデータでもカロリー制限は血中 adiponectin 濃度を雄で約 70%、雌で約 50%上昇させた。これまでの研究は、adiponectin 欠損が肥満誘発性の耐糖能悪化や肝臓や骨格筋などの臓器への異所性脂肪蓄積につながることを示しており、adiponectin は主に糖代謝や脂質代謝を制御する因子として知られている。しかし、カロリー制限下における adiponectin の役割については十分に検討されておらず、カロリー制限下で adiponectin 産生量が増大する代謝学的意義は不明である。本研究では、*Adiponectin* KO マウス (以下 *Adipoq* KO マウス) を用いて adiponectin がカロリー制限下での個体の代謝適応に果たす役割を明らかにすることを目的とし、性差を含めて包括的に解析した。

まず、adiponectin 欠損は、性別や食事にかかわらず、体重、脂肪量、除脂肪量に影響を与えず、重要なことに、これらのパラメータに対するカロリー制限の効果を変えなかった。このことは、adiponectin はカロリー制限による体組成の変化には関与しないことを示唆している。

また、一般に adiponectin は血糖値を下げる因子と認識されているが、予想外なことに、前任者らが行った我々の耐糖能負荷試験では、カロリー制限下では *Adipoq* KO マウスが野生型よりもさらに低い血糖値を示して、adiponectin がカロリー制限下において血糖値恒常性を維持する役割を持つことが示唆された (図 1)。

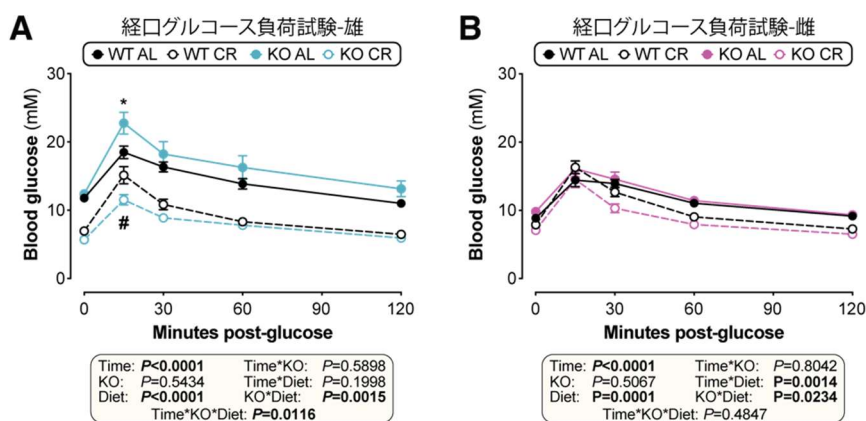


図1. 耐糖能試験

A-B 3.5週間のカロリー制限後の経口グルコース負荷試験 (OGTT, 2mg/g-BW glucose)。A 雄データ、B 雌データ。

WT: 野生型, KO: adiponectin KO, AL: 通常食, CR: カロリー制限

雌雄ともにgenotypeとDietの間で有意なinteractionを認め、adiponectin欠損は通常食下では血糖値上昇傾向を、カロリー制限下では血糖値低下傾向を誘導した。このadiponectin欠損効果は雄でより明かであった。

脂質代謝に関しては、NEFA 濃度がカロリー制限によって上昇し、*Adipoq* KO マウスでその上昇がさらに増強された。また、雄に限っては、経口脂質負荷試験において、通常食下でもカロリー制限下でも *Adipoq* KO マウスでトリグリセリドクリアランスが障害されていた (図 2)。以上の結果は、カロリー制限下では

adiponectin 欠損が脂質利用 (脂質酸化) の阻害につながっている可能性を示しており、カロリー制限下の *Adipoq* KO マウスでは脂質の代わりに糖がエネルギー源として利用されて、この結果 *Adipoq* KO マウスが野生型よりも低い血糖値を示す可能性が考えられた。

間接熱量測定では、カロリー制限によって、雌雄ともに 24 時間平均呼吸交換比 (respiratory exchange ratio: RER, 糖がエネルギー基質として利用されると 1.0 付近、脂質がエネルギー基質として利用されると 0.7 付近の値を示す) は低下した。しかし、性別を問わず、adiponectin 欠損による 24 時間 RER の値への影響は通常食下・カロリー制限下のどちらにおいても明らかでなかった。しかし、RER の時間変化の詳細に着目したところ、性差のある adiponectin 欠損の効果が認められた。例えば、カロリー制限下の雄では adiponectin 欠損は摂食後の RER の上昇を促進したが雌ではむしろ抑制した。一つの可能性として、カロリー制限中、adiponectin 欠損が雄の食後グルコース利用を促進することが考えられる。もしそうであれば、カロリー制限下マウスにおける糖負荷試験のピーク血糖値が雄の KO では野生型より低いのに、雌の KO ではこの差が顕著でない理由を説明できるかもしれないと考えられた。

通常食またはカロリー制限食、野生型または *Adipoq* KO、雄または雌、の計 8 群で行った肝臓 RNA-seq 解析では、AL 条件下では、adiponectin 欠損が脂質代謝関連遺伝子群の発現を変化させ、特に雌雄どちらもステロール合成関連遺伝子群の発現が亢進している様子が認められた。対照的に、カロリー制限下では、雌雄ともに *Adipoq* KO マウスの肝臓ではアミノ酸代謝関連遺伝子群の発現が強く変化しており、特にこれらの遺伝子の中でもアミノ酸異化関連遺伝子群の発現が野生型に比べて *Adipoq* KO マウスの肝臓にエンリッチされている様子が見出された (図 3)。

この結果について、カロリー制限下において adiponectin

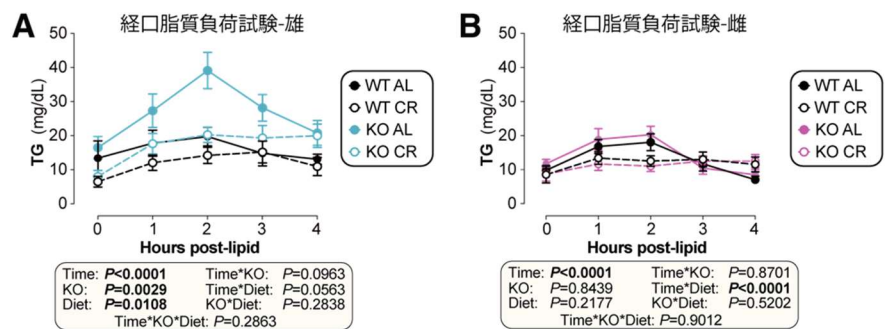


図2. 経口脂質負荷試験

A-B 3.5週間のカロリー制限後の経口脂質負荷試験 (OLTT, 15uL/g-BW Intralipid)。A 雄データ、B 雌データ。

WT: 野生型, KO: adiponectin KO, AL: 通常食, CR: カロリー制限

雌では *Adipoq* KO マウスでトリグリセリド (TG) クリアランス障害を認め、カロリー制限下と比べると通常食下の方がこの KO 効果は大きかった。一方で雌ではこの KO 効果は認められなかった。

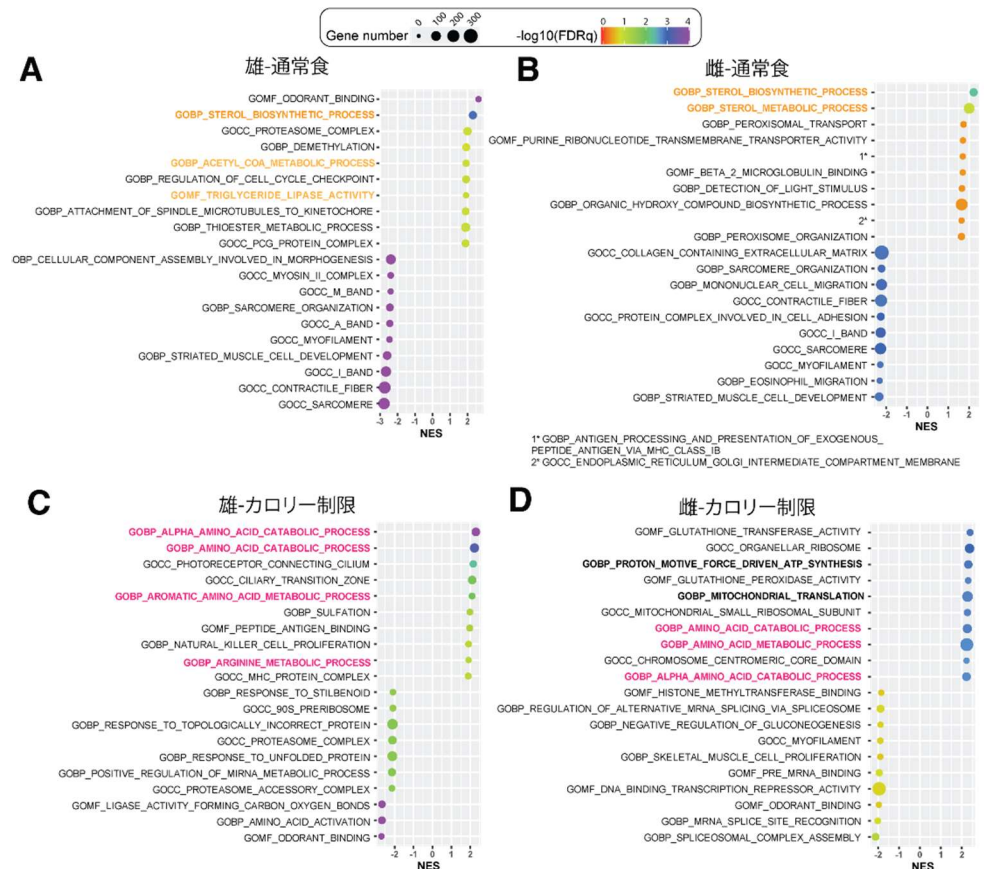


図3. 肝臓のRNA-seqデータのGSEA解析

雄/通常食 (A)、雌/通常食 (B)、雄/カロリー制限食 (C)、雌/カロリー制限食 (D) の 4 subgroup それぞれでの野生型と *Adipoq* KO 間での GSEA 解析結果。正の Normalised Enrichment Score (NES) は KO への集積、負の NES 値は野生型への集積を示す。

通常食下では雌雄ともにステロール合成関連遺伝子群が KO に強く集積していた一方、カロリー制限下ではアミノ酸異化関連遺伝子群が KO に強く集積していた。

は肝臓でのアミノ酸分解を抑制しており、ひいては、骨格筋でのタンパク分解とアミノ酸供給を抑制して、筋肉が栄養源として消費されることを防いでいるのではないかと仮説をたて、これを検証するために、腓腹筋とヒラメ筋の筋肉量と腓腹筋の筋線維横断面積を分析した。筋肉量は雄よりも雌の方が低く、カロリー制限によって有意に減少していた。また、カロリー制限によって腓腹筋筋線維の横断面積も低下した。しかし、**adiponectin** 欠損はこれらのパラメータに影響を与えず、カロリー制限によるそれらの調節も変えなかった。したがって、カロリー制限下での骨格筋タンパク質分解と循環へのアミノ酸の放出に **adiponectin** が実質的に影響を及ぼしている可能性は低いと考えられた。カロリー制限下の肝臓で、**adiponectin** がアミノ酸異化関連遺伝子群の発現を抑制する機能的な意味を明らかにするために、血漿および肝臓に含まれるアミノ酸について LC-MS による測定を行い、現在もその解析を進めている。

本研究により、**adiponectin** がカロリー制限下において、性差を伴いながら脂質・糖・アミノ酸代謝のバランスを調整している可能性を明らかにし、従来、**adiponectin** はインスリン感受性向上や脂質代謝促進に関与するとされてきたが、その機能が通常食下とカロリー制限下で大きく異なることを示すことができた (Ikushima YM\*, Kuan Chan-Chen\* et al, *bioRxiv* 2025)。しかし、カロリー制限下で **adiponectin** 欠損が血糖値低下を誘導する分子メカニズムや、**adiponectin** がカロリー制限下の肝臓でアミノ酸異化関連遺伝子の発現を抑制している機能的意義はまだ未解明であり、今後 *tracer analysis* を利用した基質動態の詳細な検討等が有用であると考えられる。本研究成果は 2024 年に Canada, Montreal で開催された 8<sup>th</sup> International Meeting on Bone Marrow Adiposity で口頭発表した。

また、上述の肝臓のRNA-seq dataの野生型データ (通常食雄・通常食雌・カロリー制限食雄・カロリー制限食雌の4群) を解析する中で、カロリー制限下における肝臓での遺伝子発現変化の性差について知見を得ることができ、研究室で以前より進められていたカロリー制限下における代謝変化の性差についてのプロジェクトにも参画して論文発表した。

カロリー制限下における代謝変化の性差を明らかにするプロジェクトでは、以前のポストドクらにより、カロリー制限時に、雄マウスでは体脂肪率の低下と血糖値の改善が顕著に認められるものの、雌ではこの効果が低いことが見出されていた。しかしこの分子的背景は明らかでなかった。申請者らは、まず、皮下脂肪サンプルで脂肪分解 (lipolysis) に働く酵素 HSL のリン酸化の評価を行い、雄でのみカロリー制限下で HSL のリン酸化が有意に亢進していることを見出した。また、間接熱量測定での RER 計測により、食事後の脂肪酸合成が、カロリー制限下の雌では雄に比べてより活発に起こっている可能性が見出された。さらに、肝臓サンプル RNA-seq の GSEA 解析により、カロリー制限下の肝臓においては通常食マウスの肝臓に比べて酸化リン酸化、クエン酸回路関連遺伝子の発現が亢進している傾向があり、さらに雌より雄の肝臓でこれらの遺伝子群の発現が亢進していることを見出された。このことから、カロリー制限下の雄の肝臓では、雌の肝臓に比べ糖をより消費する結果、血糖値がより改善する傾向にあることが考えられた。また、血中ケトン体を測定したところ、特にカロリー制限下では雌の方が雄よりケトン値が高かった。血中ケトン値は肝臓のアセチル CoA と相関関係にあり、肝臓アセチル CoA は糖新生を亢進させる作用がある。以上から、カロリー制限下のメスにおいては肝臓のアセチル CoA 含有値が雄よりも高く、これが糖新生を促進することも、雌でのカロリー制限時の血糖値低下効果が雄に比べて低い要因の一つである可能性が考

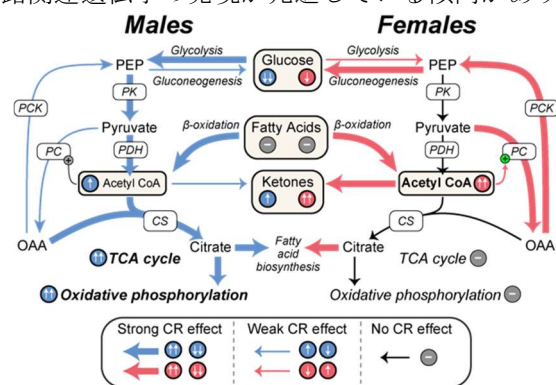


図4. 肝臓RNA-seqや血中ケトン値データに基づくカロリー制限下の肝臓での糖代謝における性差についてのproposal  
PK, pyruvate kinase; PDH, pyruvate dehydrogenase; CS, citrate synthase; PC, pyruvate carboxylase; PCK, phosphoenolpyruvate carboxykinase.

えられた (Suchacki KJ\*, Thomas BJ\*, Ikushima YM\* et al, *eLife*, 2023) (図 4)。この研究成果については、いずれも 2023 年に英国 Edinburgh で開催された The 46<sup>th</sup> Meeting of the Adipose Tissue Discussion Group および IMPRESS Talent meeting (女性の心血管疾患に関するオランダ研究コンソーシアム impress と Edinburgh 大学の joint meeting) において発表する機会を得た。