

RXR 阻害による p53-p21^{Cip1} 経路の活性化および G0/G1 細胞周期停止を介した抗肥満作用

中司 敦子*, 和田 淳, 榎野 博史

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 腎・免疫・内分泌代謝内科学

キーワード: RXR, cell cycle, obesity, p53, p21^{Cip1}

RXR antagonism induces G0/G1 cell cycle arrest and ameliorates obesity by up-regulating p53-p21^{Cip1} pathway in adipocytes

Atsuko Nakatsuka*, Jun Wada, Hirofumi Makino

Department of Medicine and Clinical Science, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

はじめに

糖尿病領域の細胞周期異常については糖尿病性腎症で研究が進んでおり、メサンギウム細胞では、高血糖によりサイクリン依存性キナーゼ阻害因子である p21^{Cip1}, p27^{Kip1}が増加してG1期細胞周期停止が起こる結果、細胞肥大を来すことが知られている¹⁻⁵。一方で、肥満における脂肪細胞の細胞周期異常に関しては、まだ十分には解明されていない⁶⁻⁹。臨床上有用な糖尿病治療薬である thiazolidinediones (TZDs) は核内受容体作用薬のひとつであり、peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR γ) アゴニストとして作用する。同じく核内受容体のひとつであるレチノイドX受容体 (RXR) は PPAR γ とヘテロダイマーを形成するが、本研究では RXR アンタゴニスト (HX531) を

用いて、細胞周期の観点から肥満と2型糖尿病に対する治療効果とその分子メカニズムについて解明した¹⁰。

HX531は抗肥満・抗糖尿病作用を示す

2型糖尿病・肥満動物モデルである OLETF ラットに HX531 を投与すると、TZDs のひとつである pioglitazone (PIO) と同様にインスリン抵抗性改善作用を示したが、PIO が体重・脂肪組織重量の増加を来すのに対して、HX531 ではこれらの減少を認めた。

HX531は脂肪細胞の細胞周期をG0/G1期で停止させ、脂肪細胞肥大を抑制する

次に PIO, HX531 を投与した OLETF ラットの臓脂肪組織から脂肪細胞を分離して細胞径を計測したところ、HX531 投与でラット臓脂肪細胞が小型化していることが明らかとなった。さらに、分離した脂肪細胞を propidium iodide で染色後、laser scan cytometer で細胞周期を解析すると、HX531 は G0/G1 期の細胞周期停止をもたらし、脂肪細胞の増殖や肥大を抑制していた (図1)。

平成24年3月受理

*〒700-8558 岡山市北区鹿田町2-5-1

電話: 086-235-7235 FAX: 086-222-5214

E-mail: atsuko-n@md.okayama-u.ac.jp

プロフィール



中司 敦子

1973年12月16日生

1998年3月 岡山大学医学部医学科卒業

1998年4月 岡山大学医学部附属病院 第3内科 研修医

1998年10月 倉敷中央病院 内科 研修医

2000年7月 倉敷中央病院 腎臓内科 医員

2002年10月 岡山大学病院 腎・免疫・内分泌代謝内科 医員

2004年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 腎・免疫・内分泌代謝内科学 研究生

2007年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 腎・免疫・内分泌代謝内科学 客員研究員

厚生労働技官 (国立療養所 邑久光明園 内科医師)

現在に至る

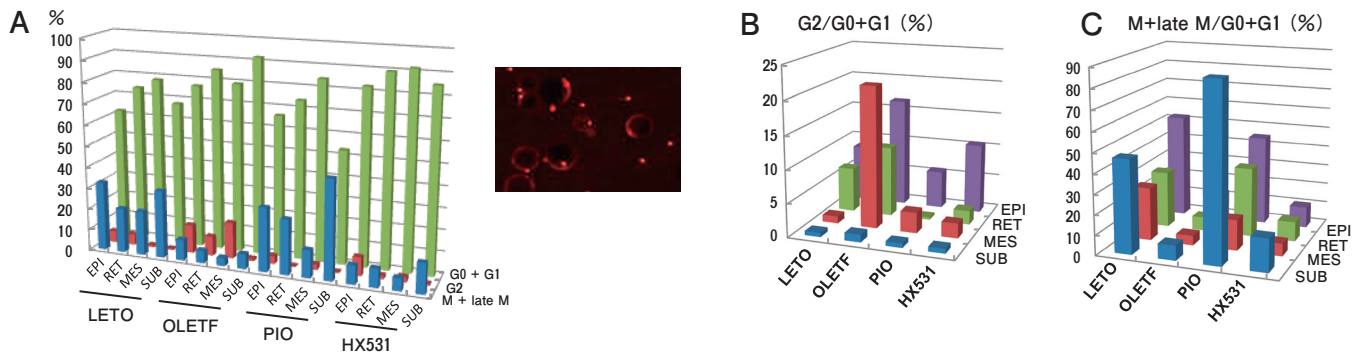


図1 Cell cycle analyses of adipocytes isolated from various adipose tissues of LETO and OLETF rats. LETO, LETO rats ; OLETF, OLETF rats ; PIO, OLETF rats treated with pioglitazone ; HX531, OLETF rats treated with HX531. EPI, epididymal ; RET, retroperitoneal ; MES, mesenteric ; SUB, subdermal ; BAT, brown adipose tissues. Nuclear DNA was stained with $50\mu\text{g}/\text{ml}$ propidium iodide and stained cells were analyzed on a laser scanning cytometer. (転載許可を得て文献10より一部改変して引用)

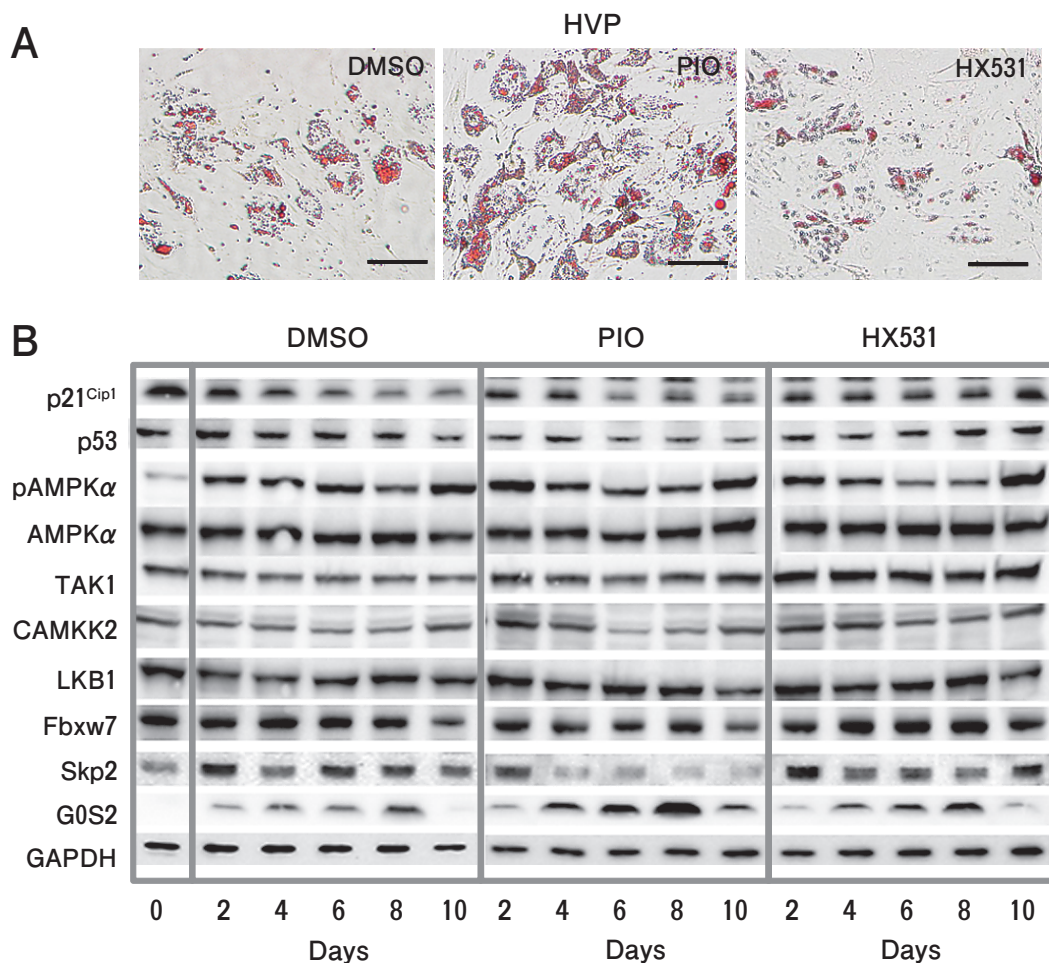


図2 Human visceral preadipocytes (HVP) induced with dexamethasone, insulin, indomethacin and isobutyl-methylxanthine supplemented with 0.1% v/v DMSO (DMSO group), $10\mu\text{M}$ pioglitazone, (PIO group), and $2.5\mu\text{M}$ HX531 (HX531 group). (A) Oil-red O staining. (B) Western blot analyses. ; Skp2, F-box protein S-phase kinase-associated protein 2 ; G0S2, G0/G1 switch gene 2 ; AMPK, AMP-activated protein kinase ; TAK1, TGF- β activated kinase 1 ; CAMKK2, calcium/calmodulin-dependent protein kinase 2 ; GAPDH, glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase. (転載許可を得て文献10より一部改変して引用)

HX531は培養正常ヒト脂肪細胞において p53-p21^{Cip1}の発現を亢進させ、分化を抑制する

培養前駆内臓脂肪細胞の分化誘導時に HX531 を添加すると、PIO を添加した場合と逆に脂肪細胞分化が抑制され、分化誘導後の経時的な p21^{Cip1} および p53 蛋白発現の増加と、AMP-activated protein kinase- α (AMPK α) リン酸化の亢進が認められた (図 2)。また p21^{Cip1} や p53 をレンチウイルスでノックダウンすると HX531 添加による脂肪細胞の増殖抑制効果は消失した。

次に HX531 による p21^{Cip1}, p53 の制御機序を解明するために p53 をノックダウンすると、p21^{Cip1} の蛋白量および AMPK α リン酸化が抑制された。p21^{Cip1} は RXR binding element (PPRE) をプロモータに有するため、ChIP-PCR アッセイを施行したところ、RXR の p21^{Cip1} プロモータへの結合は HX531 により抑制されていた。これらの検討から、HX531 は p53 の蛋白量を増加させることで、p53 のターゲット遺伝子である p21^{Cip1} 発現を亢進させ、肥満における脂肪細胞の細胞周期異常を是正しているものと考えられた (図 3)。

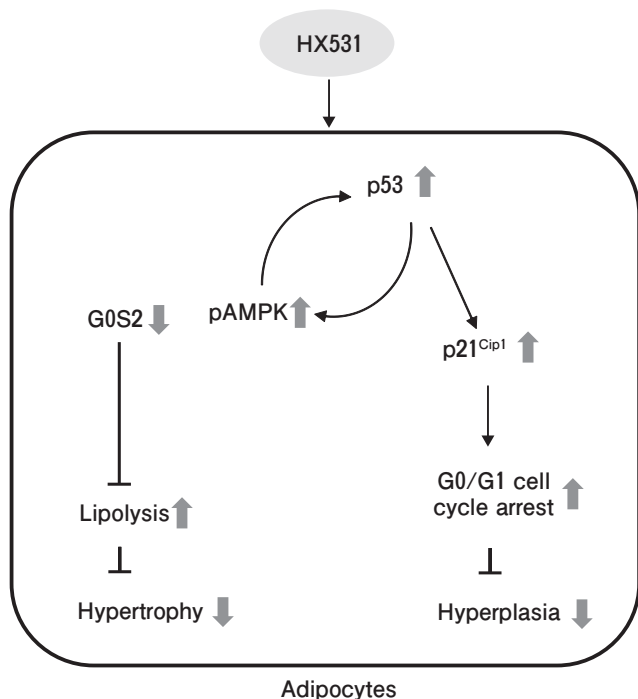


図 3 Hypothetical schema of action mechanisms of HX531 inhibiting adipocyte hypertrophy and hyperplasia. The action of HX531 is compared with pioglitazone (arrows). (転載許可を得て文献10より引用)

おわりに

内臓脂肪蓄積は、糖尿病や脳血管疾患や冠動脈疾患などを引き起こすメタボリックシンドロームの上流に位置する病態であるが、メタボリックシンドロームが急増する現在、内臓脂肪蓄積の病態解明と、これへの対策は必須である。

内臓脂肪の肥大や増殖は細胞周期により制御されており PPAR γ と脂肪細胞の細胞周期については研究が進んでいるが、PPAR γ とヘテロダイマーを形成する RXR に関する報告は少ない¹¹⁻¹³。臨床場において糖尿病治療に使用されている PPAR γ アゴニストである TZDs (pioglitazone など) は、インスリン抵抗性の原因となる大型脂肪細胞にアポトーシスを起こす一方で、前駆脂肪細胞を増殖させてインスリン感受性の良い小型脂肪細胞への分化を誘導する¹⁴。しかし食事療法が不十分であれば増殖した脂肪細胞が肥大することによって肥満を悪化させる。これに対して、RXR アンタゴニストはインスリン抵抗性改善効果・抗肥満効果を示すことを今回明らかにした。すなわち、脂肪細胞の肥大を抑制することで脂肪細胞を小型化させインスリン抵抗性を改善させるが、TZDs と異なり脂肪細胞数は増加させないため、脂肪重量や体重が減少するのである。またその機序について、RXR アンタゴニストである HX531 が直接、p53-p21^{Cip1} の発現を増加させて細胞周期を制御しているという新しいメカニズムを解明した。

文 献

- 1) Griffin SV, Pichler R, Wada T, Vaughan M, Durvasula R, Shankland SJ: The role of cell cycle proteins in glomerular disease. *Semin Nephrol* (2003) 23, 569-582.
- 2) Wolf G, Reinking R, Zahner G, Stahl RA, Shankland SJ: Erk 1, 2 phosphorylates p27 (kip1): Functional evidence for a role in high glucose-induced hypertrophy of mesangial cells. *Diabetologia* (2003) 46, 1090-1099.
- 3) Abdel-Wahab N, Weston BS, Roberts T, Mason RM: Connective tissue growth factor and regulation of the mesangial cell cycle: Role in cellular hypertrophy. *J Am Soc Nephrol* (2002) 13, 2437-2445.
- 4) Al-Douhaji M, Brugarolas J, Brown PA, Stehman-Breen CO, Alpers CE, Shankland SJ: The cyclin kinase inhibitor p21waf1/cip1 is required for glomerular hypertrophy in experimental diabetic nephropathy. *Kidney Int* (1999) 56, 1691-1699.
- 5) Wolf G, Schroeder R, Thaiss F, Ziyadeh FN, Helmchen

- U, Stahl RA : Glomerular expression of p27kip1 in diabetic db/db mouse : Role of hyperglycemia. *Kidney Int* (1998) 53, 869-879.
- 6) Sakai T, Sakaue H, Nakamura T, Okada M, Matsuki Y, Watanabe E, Hiramatsu R, Nakayama K, Nakayama KI, Kasuga M : Skp2 controls adipocyte proliferation during the development of obesity. *J Biol Chem* (2007) 282, 2038-2046.
 - 7) Naaz A, Holsberger DR, Iwamoto GA, Nelson A, Kiyokawa H, Cooke PS : Loss of cyclin-dependent kinase inhibitors produces adipocyte hyperplasia and obesity. *FASEB J* (2004) 18, 1925-1927.
 - 8) Inoue N, Yahagi N, Yamamoto T, Ishikawa M, Watanabe K, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Takeuchi Y, Kobayashi K, Takahashi A, Suzuki H, et al. : Cyclin-dependent kinase inhibitor, p21waf1/cip1, is involved in adipocyte differentiation and hypertrophy, linking to obesity, and insulin resistance. *J Biol Chem* (2008) 283, 21220-21229.
 - 9) Hallenborg P, Feddersen S, Madsen L, Kristiansen K : The tumor suppressors p16 and p53 as regulators of adipocyte differentiation and function. *Expert Opin Ther Targets* (2009) 13, 235-246.
 - 10) Nakatsuka A, Wada J, Hida K, Hida A, Eguchi J, Teshigawara S, Murakami K, Kanzaki M, Inoue K, Terami T, Katayama A, et al. : Rxr antagonism induces g(0)/g(1) cell cycle arrest and ameliorates obesity by up-regulating the p53-p21 (cip1) pathway in adipocytes. *J Pathol* (2011) 226, 784-795.
 - 11) Pinaire JA, Reifel-Miller A : Therapeutic potential of retinoid x receptor modulators for the treatment of the metabolic syndrome. *PPAR Res* (2007) 2007, 94156.
 - 12) Altucci L, Leibowitz MD, Ogilvie KM, de Lera AR, Gronemeyer H : Rar and rxr modulation in cancer and metabolic disease. *Nat Rev Drug Discov* (2007) 6, 793-810.
 - 13) Shulman AI, Mangelsdorf DJ : Retinoid x receptor heterodimers in the metabolic syndrome. *N Engl J Med* (2005) 353, 604-615.
 - 14) Okuno A, Tamemoto H, Tobe K, Ueki K, Mori Y, Iwamoto K, Umesono K, Akanuma Y, Fujiwara T, Horikoshi H, Yazaki Y, et al. : Troglitazone increases the number of small adipocytes without the change of white adipose tissue mass in obese Zucker rats. *J Clin Invest* (1998) 101, 1354-1361.