

反芻動物におけるヘパトカインとしてのChemerinとANGPT L8の発現調節

誌名	栄養生理研究会報
ISSN	02864754
著者名	鈴木,裕 中野,美智 芳賀,聡 中島,恵一 加藤,和雄 盧,尚建
発行元	家畜栄養生理研究会
巻/号	59巻2号
巻号補足	
掲載ページ	p. 59-68
発行年月	2015年10月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



反芻動物におけるヘパトカインとしてのChemerinとANGPTL8の発現調節

鈴木 裕¹・中野美智¹・芳賀 聡^{1,2}・中島恵一³・加藤和雄¹・盧 尚建¹

(¹東北大学大学院農学研究科、²農研機構 畜産草地研究所、³農研機構 北海道農業研究センター)

1. はじめに：家畜生産における内分泌学の意義

家畜における内分泌研究の重要性は、栄養代謝が基礎となる泌乳、産肉、繁殖といった家畜の生産形質の分子メカニズムの解明に大きく寄与している点である。近年の研究から、内分泌腺以外の様々な臓器や組織がペプチドホルモンやサイトカインを内分泌することが明らかになってきた。従って、現在の内分泌学は内分泌腺による代謝器官の調節という単純なモデルから、代謝器官を含む全身の様々な組織によるホルモン分泌を介した代謝調節ネットワークというパラダイムシフトの途上にあり、この複雑なネットワークの解明が盛んに試みられている。

2. 肝臓由来の内分泌因子“ヘパトカイン”

肝臓は、多岐にわたる機能を有し、生体内で最大の栄養代謝器官であると言えるだろう。また、ウシなどの反芻家畜の肝臓は、単胃動物と比べて代謝特性は異なるものの、反芻胃や小腸から吸収された栄養素が最初に代謝される機能的に重要な臓器である。さらに、近年の研究から、肝臓が多くの内分泌因子を分泌する内分泌器官としての役割を持つことが明らかになりつつある。肝臓由来の内分泌因子としてはInsulin-like growth factor 1 (IGF-1)がよく知られているが、Fetuin-AやFibroblast growth factor 21 (FGF-21)、Selenoprotein-P、Angiopoietin-like proteins (ANGPTLs)など、ヘパトカイン (hepatokine) と総称される肝臓由来の新規内分泌因子が発見されている。ヘパトカインには、全身の糖代謝、脂質代謝やインスリンシグナルを調節する作用があり、肝臓は自らの栄養代謝状態に応じてヘパトカインを分泌することで、

全身の代謝を調節していると考えられる。当研究グループではChemerinとANGPTL8という2種類のヘパトカインに注目し、反芻家畜の代謝調節機構の解明に取り組んでいる。本稿では、主にウシにおけるこれらのヘパトカインの遺伝子発現・分泌調節について、近年得られた結果を報告したい。

3. ウシにおけるChemerinの研究

1) Chemerinについて

Chemerinは、RARRES2 (retinoic acid receptor responder 2) (別名TIG2 (tazarotene-induced gene 2)) にコードされるケモカイン型の分泌タンパク質である¹⁾。Chemerin受容体は現在までに3種類のGPCR；CMKLR1 (chemokine like receptor 1)、GPR1 (G-protein coupled receptor 1) およびCCRL2 (chemokine (C-C motif) receptor-like 2) が同定されている²⁻⁴⁾。マウスにおけるChemerinの主要な遺伝子発現部位は心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、膵臓、白色脂肪組織、褐色脂肪組織、胎盤、子宮であり、特に肝臓および白色脂肪組織において高発現している。ヒトにおける発現部位もほぼ一致している。Chemerin受容体については、互いにその組織分布が異なる。CMKLR1は心臓、肺、骨格筋、脂肪組織において高発現している。また、CCRL2は脾臓やリンパ節において高発現しており、GPR1は骨格筋、脂肪組織、脳において高発現している^{5,6)}。Chemerinは樹状細胞やマクロファージ、NK細胞を炎症部位に誘引する生理作用を持つ^{2,7)}。また、代謝系における作用としては、末梢組織のインスリン感受性、グルコース取り込みの調節、脂肪前駆細胞から成熟脂肪細胞分化の調節、インスリン

産生・分泌の調節が報告されている⁸⁻¹¹⁾。当研究グループの以前の研究から、Chemerin が反芻家畜においてインスリン分泌促進作用や遺伝子上の SNP が枝肉の脂肪酸組成に影響を与えることも判明している。

このように Chemerin は肝臓に高発現するヘパトカインとして家畜の免疫系および代謝系を調節し、生産性に影響を与えると考えられる。本研究では免疫系と代謝系が重要な役割を持つ子牛と泌乳牛の肝臓において Chemerin および Chemerin 受容体の遺伝子発現調節を検討した。

2) ホルスタイン種仔牛における Chemerin と Chemerin 受容体発現の組織分布

ホルスタイン種仔牛（2～3ヶ月齢）において Chemerin の mRNA 発現の組織分布を検討したところ、脂肪組織、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、小腸において発現しており、特に肝臓において高発現していた。Chemerin 受容体である CMKLR1 と CCRL2 は様々な組織で発現していたが、CMKLR1 は肝臓、副腎、脾臓、肺において発現が高く、CCRL2 は脂肪組織、副腎、脾臓、大腸、肺において高発現していた。また、

GPR1 の発現は局在化しており、脂肪組織、肝臓、肺、第1～3胃にのみ発現がみられ、特に肝臓における発現が高かった。免疫染色により Chemerin の組織内局在を確認すると、肝臓においては肝細胞の細胞質において、脂肪組織においては脂肪細胞の細胞質においてタンパク質の局在が確認された（免疫染色図では視野が全体的に染色されている）（Fig. 1A and 1B）。Krautbauer らの報告によるとヒトの肝臓における Chemerin は免疫細胞や胆管細胞ではなく、肝細胞において発現しており、今回の結果と一致する¹²⁾。また、本研究グループの以前の報告において、脂肪組織における Chemerin の発現は脈管間質細胞よりも脂肪細胞において高発現していることが確認されており¹³⁾、今回の結果と一致する。発現量および臓器の体積から、ウシにおける Chemerin の主な内分泌器官は肝臓であると考えられる。

3) 離乳期の黒毛和種牛における Chemerin と Chemerin 受容体の発現調節

子牛は離乳後に第一胃内発酵により産生された揮発性脂肪酸を第一胃壁から吸収し、肝臓や脂肪組織において糖新生と脂質合成に利用するようになる。

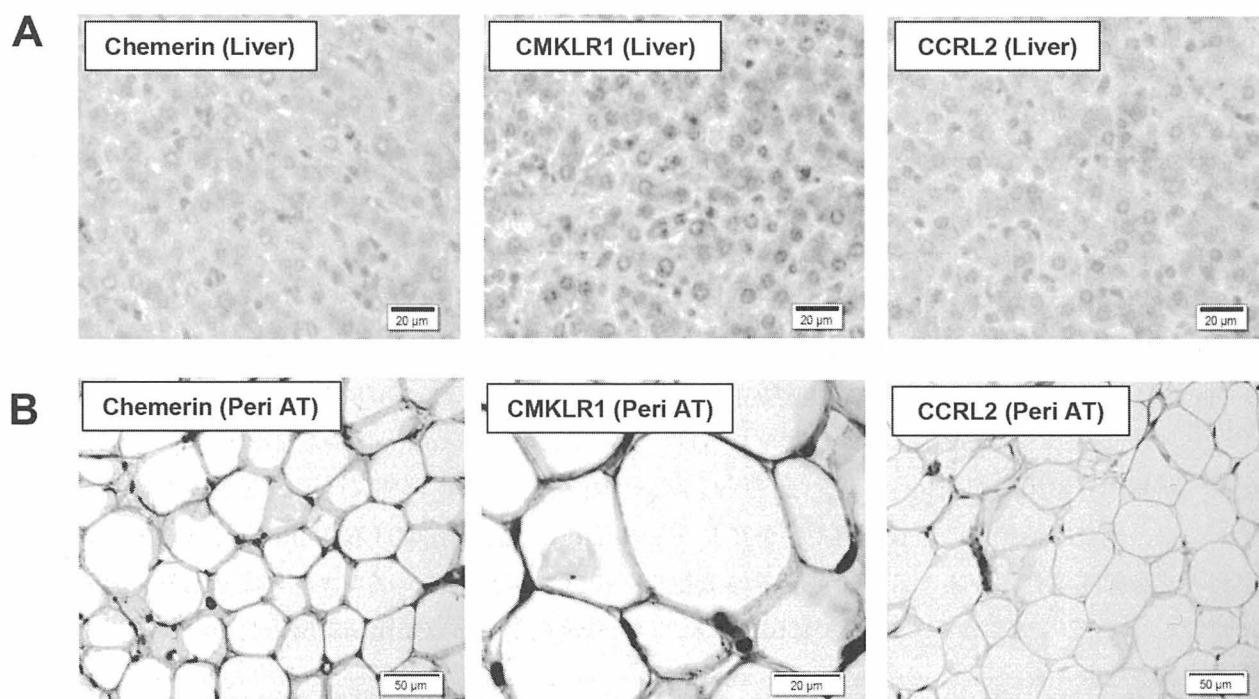


Fig. 1. Localization of chemerin and its receptors in liver and perirenal adipose tissue.

Paraffin embedded liver and perirenal adipose tissue from Japanese black calf (1.5 months of age) were immunostained for chemerin (A), CMKLR1 (B) and CCRL2 (C).

このような反芻動物特有の代謝系への変化を引き起こす分子的メカニズムには依然として未解明の部分が多いが、少なくとも内分泌系による制御が密接に関わっている。Chemerin がインスリン分泌調節作用および末梢組織の糖代謝・インスリン感受性調節作用を持つことに着目し、本研究では離乳期における肝臓の Chemerin の遺伝子発現と肝臓、脂肪組織、骨格筋の Chemerin 受容体の発現量の変化を解析した。

離乳前(1.5ヶ月齢、n=6)または離乳後(3.5ヶ月齢、n=8)の黒毛和種牛(雄)より、肝臓、脂肪組織(皮下、腸間膜、腎周囲、精巣周囲)、腰最長筋をサンプリングし、qRT-PCRまたはWestern blottingによりmRNA またはタンパク質発現量を解析した。

Chemerin の mRNA 発現量は腸間膜脂肪組織において離乳前と比較して離乳後に増加した。Chemerin のタンパク質発現は肝臓において離乳後に顕著に減少したが、腸間膜脂肪組織では変化がなかった。また、Chemerin 受容体の mRNA 発現量については CCRL2 および GPR1 が肝臓において離乳後に増加した。

脂肪組織における Chemerin の発現は肝臓の約 1/10 と低かったことから、子牛における血中 Chemerin の供給源は主に肝臓であると考えられる。Chemerin がインスリン分泌をポジティブに制御する作用を持つことから、離乳後の肝臓における Chemerin タンパク質の発現低下は、離乳後の血中 Insulin 濃度の低下に関与している可能性が示唆された^{11,14)}。

4) 育成期の黒毛和種牛における Chemerin と Chemerin 受容体の発現調節

離乳期に引き続く育成期における栄養条件は、筋肉の発達や脂肪交雑などの生産性に直結する重要なファクターである。この時期の内分泌機構としてはインスリンや成長ホルモン、IGF-1 が詳細に研究されている。一方、Chemerin については、インスリン分泌系や筋細胞の分化・増殖に対する作用が報告されている¹⁵⁾。そこで本研究では、幼少期の栄養条件の差がウシの肝臓の Chemerin 発現に与える影響を検討した。

黒毛和種牛(去勢)を粗飼料給餌区と濃厚飼料給餌区に分けて飼養した(両区ともに n=6、ただし

17か月齢より両区 n=3 となった)。粗飼料給餌区は3ヶ月齢での離乳後、粗飼料(イタリアンライグラス1番草; CP: 9.4%, CF: 37.6%, TDN: 55.3%)を自由摂取した。濃厚飼料給餌区は1日あたり体重の2.5%を目標として濃厚飼料(育成用飼料: 50%、肥育後期用飼料: 50%; CP: 12%, CF: 6.5%, TDN: 73%)を10か月齢になるまで給与した。両区ともに、10ヶ月齢以降は乾草のみ(イタリアンライグラス1番草、CP: 8.4%, CF: 32.6%, TDN: 61.6%)を自由採食として給与した。また、25か月齢以降は補助飼料としてアルファルファサイレージ(CP: 18.1%, CF: 38.0%, TDN: 61.4%)を給与した。3か月齢(離乳時)、10か月齢(濃厚飼料給餌終了時)、17か月齢、22か月齢および27か月齢に肝臓サンプルを生検し、chemerin および chemerin 受容体の mRNA またはタンパク質発現量を解析した。

肝臓における Chemerin の発現は10ヶ月齢の時点で粗飼料給餌区に比べ濃厚飼料給餌区において増加した。タンパク質発現についても同様に、10ヶ月齢において濃厚飼料給餌区において増加した。Chemerin 受容体の mRNA 発現については実験期間中、2グループ間で差はなかった。

高エネルギー給餌下では、インスリンや成長ホルモン、IGF-1 の分泌が上昇し、筋肉や脂肪組織の発達が促進される。本研究において濃厚飼料給餌区の肝臓における Chemerin の発現上昇は、血中インスリン濃度の上昇への関与が考えられる。Chemerin は、子牛において離乳や濃厚飼料給餌といった生理条件・栄養条件の変化を察知した肝臓がインスリン分泌系に送るシグナル分子であることがここまでの研究により示唆された。しかし、今後ウシの膵β細胞における Chemerin シグナルの受容機構を解明する必要がある。

5) 乾乳期・泌乳期のホルスタイン種乳牛における Chemerin と Chemerin 受容体の発現調節

乳牛における妊娠・出産やそれに引き続く泌乳期では、代謝的および内分泌的に大きな変化が起こる。特に、出産に伴う性ホルモンおよび代謝調節ホルモン分泌の急激な変化は、泌乳に必要な栄養素を乳腺に集中させるための重要な制御機構である。

Chemerin はインスリン分泌・感受性の制御作用や脂肪細胞の分化制御作用を持つことから、泌乳代謝制御における Chemerin の役割が考えられるが、乳牛における Chemerin の報告は限られている。従って、本研究ではホルスタイン種牛の肝臓における Chemerin と乳腺における Chemerin 受容体の遺伝子発現を解析し、泌乳生理における Chemerin の役割の解明を試みた。

はじめに、乳腺における Chemerin と Chemerin 受容体の遺伝子発現を確認した。乳腺組織において Chemerin および Chemerin 受容体3種類 (CMKLR1、CCRL2、GPR1) の mRNA 発現が確認された。また、乳腺上皮細胞株 (MAC-T cell) において CMKLR1 および CCRL2 の mRNA 発現が検出された (Fig.2A)。さらに、乳腺組織内における Chemerin 受容体 (CMKLR1、CCRL2) タンパク質の局在を検討した

ところ、CMKLR1、CCRL2ともに乳腺上皮における局在が確認された。CMKLR1については、間質における局在も見られた (Fig. 2B and 2C)。

次に、泌乳初期 (分娩1週間後)、泌乳中期 (3ヶ月後)、泌乳後期 (9カ月後) または乾乳期 (14カ月後) のホルスタイン種乳牛 (各区 n=3~4) より乳腺組織と肝臓をサンプリングし、各時期の Chemerin および Chemerin 受容体の mRNA 発現量を比較した。

肝臓における Chemerin の mRNA 発現量は泌乳初期、中期と比較して乾乳期において増加した。CCRL2の発現量も泌乳初期、中期と比較して乾乳期において増加した。また、乳腺における CMKLR1 の mRNA 発現量は、泌乳初期・中期・後期と比較して乾乳期において増加した。CCRL2の mRNA 発現量は、泌乳初期・中期と比較して乾乳期において増加した。

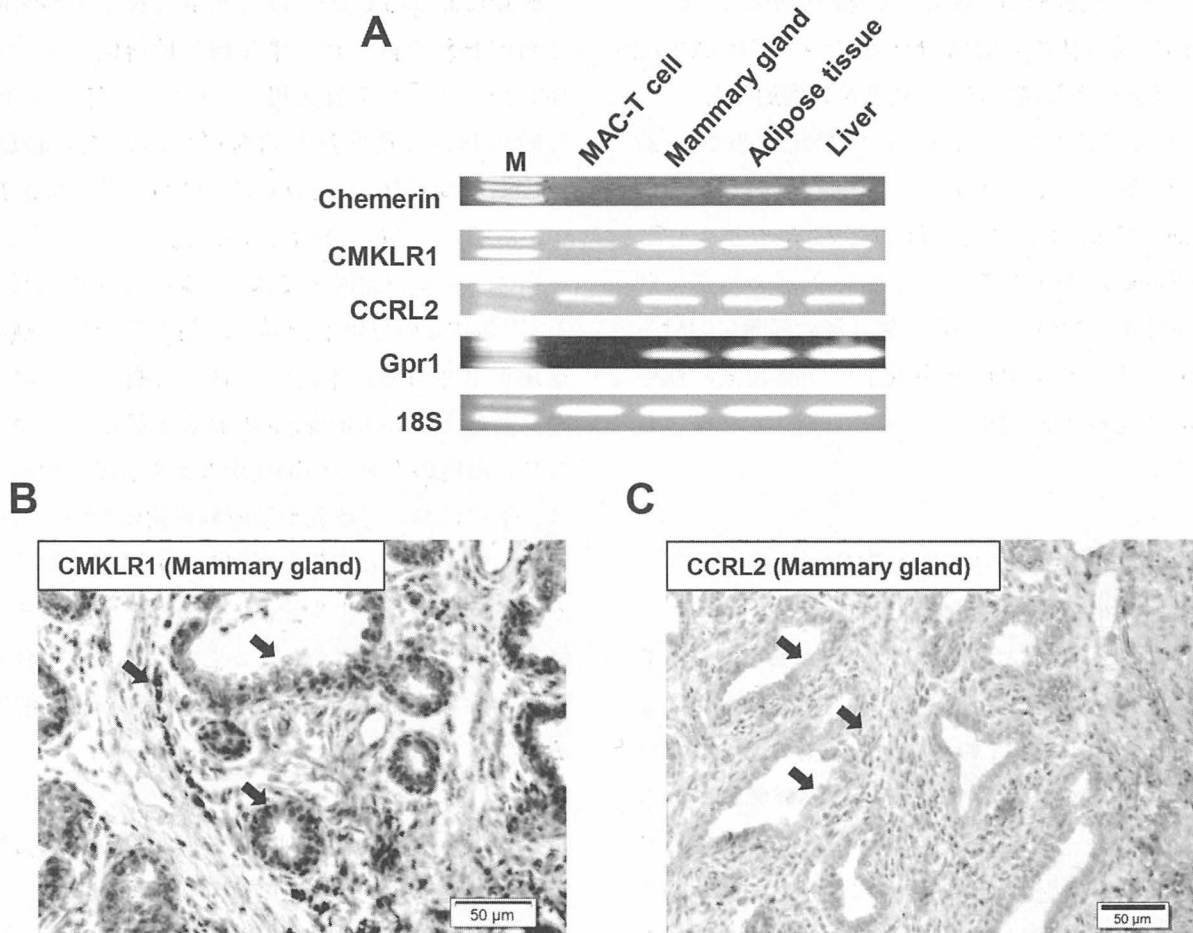


Fig. 2. Gene expression and localization of chemerin and its receptors in mammary gland of Holstein dairy cow.

(A) RT-PCR was performed with cDNA synthesized from MAC-T cell, mammary gland, liver and adipose tissue to investigate mRNA expression of chemerin, CMKLR1, CCRL2 and GPR1. (B and C) Paraffin embed mammary gland from Holstein dairy cow was immunostained to elucidate the localization of CMKLR1 and CCRL2. Arrows indicate the immunostained cells.

泌乳期における肝臓の Chemerin 発現量が減少していたことから、この期間における血中 Chemerin 濃度は低下していることが予想される。泌乳期では血中 Insulin 濃度が低下している。Chemerin の発現量低下は泌乳期のインスリン分泌の低下に関与している可能性が考えられる。一方、乳腺において CMKLR1、CCRL2 発現は泌乳期に比べて、乾乳期において上昇していた。泌乳期と乾乳期を通じて、乳腺内の細胞構成は大きく変化する。乾乳期における Chemerin 受容体の発現上昇は、乾乳期に乳腺組織に浸潤する免疫細胞が原因ではないかと考えられる。筆者らは最近、ウシ乳腺上皮細胞株 (MAC-T 細胞) において Chemerin 受容体が発現し、Chemerin が ERK 経路を活性化させたり、乳汁合成関連遺伝子の発現を上昇させる作用を報告している¹⁶⁾。したがって Chemerin は乳腺上皮細胞において催乳ホルモン様作用あるいは成長因子様作用を持つと考えられる。しかし、本研究では、乾乳期の乳腺において

Chemerin 受容体の発現が上昇したことから、乾乳期の乳腺における Chemokine 作用も示唆される。乳腺免疫への作用など、Chemerin の作用をより詳細に検討する必要がある。

6) 周産期のホルスタイン種乳牛における Chemerin と Chemerin 受容体の発現調節

肝臓と乳腺における Chemerin と Chemerin 受容体の発現は泌乳期と乾乳期を通じてダイナミックに変化していた。次に、短期間で大きな代謝的变化が起きる周産期に焦点を当て、Chemerin シグナル変化を検討した。分娩予定日より4週間前、11週間前および分娩日 (分娩後12時間以内)、分娩1週間後、4週間後のホルスタイン種乳牛より肝臓組織を生検し、肝臓における Chemerin および Chemerin 受容体の mRNA 発現量を解析した。

結果として、肝臓における Chemerin の mRNA 発現量は実験期間を通じて変化しなかった (Fig. 3A)。

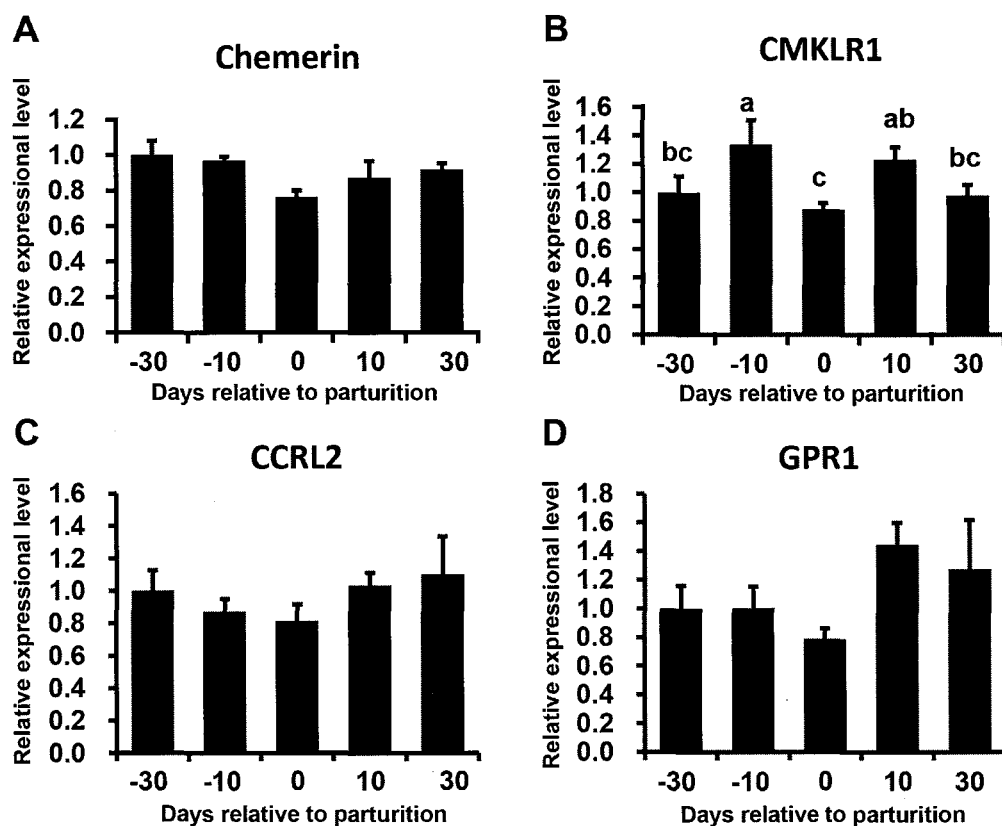


Fig. 3. Expressional levels of chemerin and its receptors in liver of Holstein dairy cows around parturition.

Liver tissues were biopsied from periparturition dairy cows (30 and 10 days before parturition, 0, 10 and 30 days after parturition). Expressional levels of chemerin (A), CMKLR1 (B), CCRL2 (C) and GPR1 (D) mRNA were quantitated by qRT-PCR. Statistical analysis was performed by repeated measures using the MIXED procedure (SAS) and means were compared using LSD test. Significant differences were described with letters.

一方、Chemerin 受容体については、CMKLR1 の mRNA 発現が分娩10日前および10日後において、その他のサンプリング日と比較して増加していた (Fig. 3B)。CCRL2と GPR1の発現量について変化は見られなかった (Fig. 3C and 3D)。

周産期における肝臓ではCMKLR1の発現が変化していた。肝臓細胞において Adiponectin が CMKLR1 発現を上昇させることが報告されている¹⁷⁾。周産期において、血中 Adiponectin 濃度は分娩にかけて低下して、その後、徐々に回復する¹⁸⁾。本研究における分娩日における CMKLR1 発現低下は Adiponectin による調節が一因であると考えられる。また、Chemerin は肝臓のグルコース取り込みを阻害することが報告⁸⁾ されていることから、Chemerin は周産期や泌乳期において泌乳代謝調節ホルモンとしての役割を持つことが示唆された。

4. ウシにおける ANGPTL8の研究

1) ANGPTL8について

Angiopoietin-like protein 8 (ANGPTL8) は別名 TD26、RIFL、Lipasin、Betatrophin と呼ばれる肝臓由来の分泌タンパク質である。マウスにおける ANGPTL8 の発現部位は肝臓および白色脂肪組織、褐色脂肪組織である。一方ヒトでは、ほぼ肝臓特異的に発現しており、他の組織における発現は極めて低い¹⁹⁾。また、ANGPTL8の受容体は現在のところ同定されていない。ANGPTL8を一躍有名にしたのが、2013年に Yi らにより Betatrophin という名称で膵β細胞の増殖効果を持つと報告されたことである²⁰⁾。しかしながら、この論文に対しては反証する論文が発表され、ANGPTL8のβ細胞増殖効果は疑問視されている^{21,22)}。現在報告されている ANGPTL8の生理作用は血中中性脂肪濃度の調節である。マウスの肝臓における ANGPTL8発現は絶食により低下し、採食後に上昇する²³⁾。また、ANGPTL8を過剰発現させたマウスは脂質異常症(血中中性脂肪濃度の上昇)を示し、ノックアウトマウスでは反対に低い血中中性脂肪濃度を示す^{24,25)}。また ANGPTL8 KO マウスでは脂肪組織の発達が遅滞しており、肝臓からの VLDL 放出も低下している²⁶⁾。このような血中中性脂肪の調節は ANGPTL8 自体の効果と、リポタンパ

ク質リパーゼ (LPL) 阻害作用を持つ ANGPTL3 を介した作用があると考えられている²⁴⁾。

ウシにおける脂質代謝(遊離脂肪酸と中性脂肪の代謝)は、成長、筋肉内への脂肪交雑、泌乳時のエネルギーの貯蔵・供給に密接に関連する。ANGPTL8は血中中性脂肪濃度の調節という特徴的な生理作用を持つことから、ウシの脂質代謝調節においても ANGPTL8の重要な役割が予想される。本研究では ANGPTL8の役割に着目して、離乳期・成長期の子牛および周産期および泌乳期・乾乳期の乳牛の脂質代謝調節機構の解明を目指した。

2) ホルスタイン種仔牛における ANGPTL8の発現分布

はじめに、ホルスタイン種仔牛(2~3ヶ月齢)における ANGPTL8の遺伝子発現の組織分布を検討した。ANGPTL8の mRNA は肝臓と脂肪組織において高発現しており、その他の組織においてはわずかに検出されるか、検出されなかった (Fig. 4A)。また、ANGPTL8のタンパク質は肝臓においてのみ検出された (Fig. 4B)。

3) 離乳前後および育成期の黒毛和種牛における ANGPTL8の発現調節

離乳前(1.5ヶ月齢、n=6)または離乳後(3.5ヶ月齢、n=8)の黒毛和種牛(雄)の肝臓における ANGPTL8の遺伝子発現を比較した。また、Chemerin に関する実験と同様に粗飼料給餌区と濃厚飼料給餌区を設定して飼養した黒毛和種牛より、3ヵ月齢(離乳時)、10ヵ月齢(濃厚飼料給餌終了時)、17ヵ月齢、22ヵ月齢および27ヵ月齢に肝臓サンプルを生検し、qRT-PCR または Western blotting により ANGPTL8の発現量を解析した。

離乳後の肝臓における ANGPTL8の mRNA 発現量は離乳前と比較して上昇する傾向を示した。しかし、タンパク質発現量は変化がなかった。また、粗飼料給餌区と濃厚飼料給餌区の間で肝臓における ANGPTL8発現量に差はなかった (Fig. 5)。

肝臓の ANGPTL8発現量はインスリン受容体アンタゴニスト (S961) を投与し、耐糖能の低下したマウスにおいて大きく上昇する²¹⁾。また、ob/ob マウ

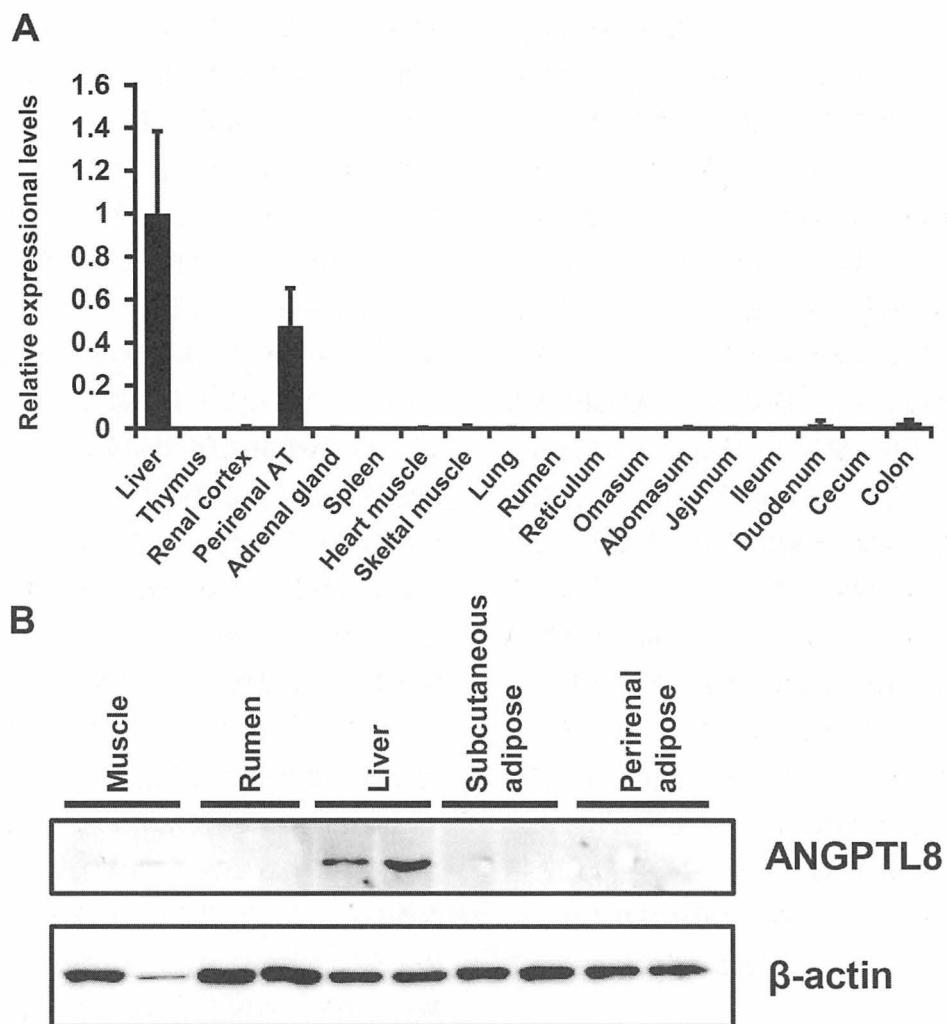


Fig. 4. Tissue distribution of ANGPTL8 mRNA and protein expression.

Expression of mRNA (A) and protein (B) of ANGPTL8 in Holstein calves or Japanese black calves were detected by qRT-PCR or western blotting, respectively.

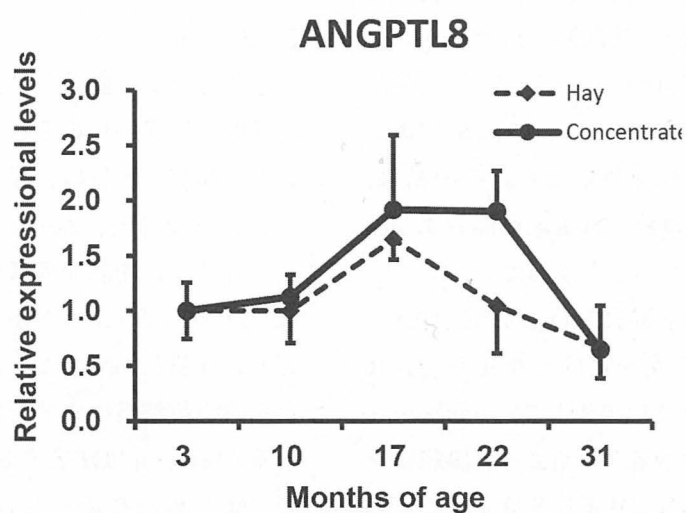


Fig. 5. Expression of ANGPTL8 mRNA in liver of hay-fed or concentrate-fed Japanese black cattle.

Liver tissues were biopsied and mRNA expression of ANGPTL8 was quantitated by qRT-PCR. Statistical analysis was performed by two-way ANOVA and Tukey's HSD test.

スや高脂肪食給餌肥満マウスにおいても肝臓における ANGPTL8 の発現が上昇している^{19, 23)}。したがって、インスリンシグナルが肝臓における ANGPTL8 の遺伝子発現の調節因子の1つであると考えられている。子牛の肝臓におけるインスリン感受性は離乳後に低下する。これは、グルコース利用の低下やプロピオン酸からの糖新生の亢進といった反芻動物特有の代謝に切り替わるメカニズムであると考えられている。離乳後の子牛の肝臓における ANGPTL8 の発現上昇はインスリン感受性の低下が一因であると考えられる。しかし、タンパク質レベルには反映されていなかった原因は、mRNA 発現変動が大きくなかったこと、あるいはサンプリング前の絶食が影響していると考えられる。また、粗飼料給餌と濃厚飼料給餌において肝臓の ANGPTL8 発現に差が無かったことから、ウシにおいてはマウスのようにインスリン感受性やエネルギーバランスの変化による影響が顕著に表出しないのではないかと考えられる。以上のように、ANGPTL8 はインスリンシグナルと脂質代謝を結び付ける因子であると考えられるが、子牛や成長期のウシにおける発現変動は大きくないことが示された。

4) 乾乳期・泌乳期および周産期のホルスタイン種乳牛における ANGPTL8 の発現調節

泌乳初期（分娩1週間後）、泌乳中期（3ヶ月後）、泌乳後期（9カ月後）または乾乳期（14カ月後）のホルスタイン種乳牛（各区 n=3~4）より乳腺組織と肝臓組織をサンプリングし、qRT-PCR により ANGPTL8 の mRNA 発現量を測定した。その結果、肝臓における ANGPTL8 の発現は泌乳期間および乾乳期を通じて有意な変化を示さなかった。

次に、周産期の乳牛の肝臓における ANGPTL8 の遺伝子発現を調べた。分娩予定日より30日前、10日前および分娩日（分娩後12時間以内）、分娩後10日、30日のホルスタイン種乳牛4頭より肝臓組織を生検し、ANGPTL8 の mRNA 発現量を測定した。周産期の肝臓における ANGPTL8 の発現の変化は、有意ではなかったが分娩日および分娩10日後において大きく低下していた。また、血中 TG 濃度は分娩1週間前より低下し、分娩日に最低値を示した後、4

週間後まで低下していた。血中 NEFA 濃度は分娩前に比べ、分娩日から4週間後まで上昇していた。

乳牛体内では泌乳の開始に伴い、脂肪組織から放出された NEFA がそのままの状態あるいは肝臓で VLDL に変換され、乳腺に動員されるようになる²⁷⁾。ANGPTL8 が LPL 活性を阻害し、血中 TG 濃度を上昇させる作用を持つとすると、周産期の肝臓における ANGPTL8 の発現変動と血中 TG 濃度の変動は一致すると考えられる。つまり、泌乳の開始に伴い ANGPTL8 の分泌が低下し、乳腺における LPL 活性が高まることで、乳腺への脂肪の動員に作用していると考えられる。また、インスリンや絶食による肝臓の ANGPTL8 発現調節が報告されていることから、分娩後の ANGPTL8 の発現低下は、血中インスリン濃度の低下やネガティブエネルギーバランスによるものであると考えられる^{24, 28)}。本研究では、泌乳期と乾乳期を比較したところ、肝臓の ANGPTL8 の発現量に差はなかった。泌乳期および乾乳期の実験において用いた乾乳牛は妊娠していなかったことが原因ではないかと考えられる。以上のように、乳牛において ANGPTL8 は泌乳期の脂質動員を調節する因子であることが示唆された。しかし、血中 ANGPTL8 濃度の測定や、泌乳ホルモンの ANGPTL8 発現に対する直接作用の検討が今後の研究で必要である。

5. まとめ

近年のウシの飼養管理は、過去の栄養学または管理学的な研究の積み重ねから高いレベルに到達しており、肉質や乳質は世界的に見ても引けを取らないと言えるだろう。反面、ウシ体内で起きていること、つまり代謝調節機構や内分泌システムについてはブラックボックスが多い。本研究ではヘパトカインという新しいホルモンに着目し、肝臓を中心とした代謝調節機構の一部を解明した。肝臓より分泌される Chemerin は離乳や飼料のエネルギー条件、出産により自身やその受容体の遺伝子発現が制御され、インスリン分泌との関連性が示唆された。また、ANGPTL8 は主に泌乳期に遺伝子発現が低下する傾向があり、泌乳期の脂質代謝を調節する役割を持つことが考えられる。これらの結果は、反芻家畜にお

いても肝臓というエネルギー代謝において重要な臓器が、自らの状態に応じてシグナルを発信し、体内の代謝を制御するモデルを支持している。本研究では肝臓におけるヘパトカインの発現制御について検討してきたが、今後の研究ではこれらのヘパトカインの標的組織における生理作用を詳細に解析する必要がある。ヘパトカインを通じて、反芻家畜の特徴的な代謝機構の解明、さらには育種マーカー、バイオマーカーとしての利用や、脂肪肝などの代謝性疾患の病態解明など、畜産現場の助けとなる研究を目指していきたい。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、育成期牛のサンプルを提供していただいた後藤貴文准教授（九州大学大学院農学研究院）と、統計方法について助言していただいた鈴木啓一教授（東北大学大学院農学研究科）に厚く御礼申し上げます。

【引用文献】

- 1) Nagpal, S. et al. Tazarotene-induced gene 2 (TIG2), a novel retinoid-responsive gene in skin. *J. Invest. Dermatol.* 109, 91-95 (1997).
- 2) Wittamer, V. et al. Specific recruitment of antigen-presenting cells by chemerin, a novel processed ligand from human inflammatory fluids. *J. Exp. Med.* 198, 977-985 (2003).
- 3) Barnea, G. et al. The genetic design of signaling cascades to record receptor activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 64-69 (2008).
- 4) Zabel, B. a et al. Mast cell-expressed orphan receptor CCRL2 binds chemerin and is required for optimal induction of IgE-mediated passive cutaneous anaphylaxis. *J. Exp. Med.* 205, 2207-2220 (2008).
- 5) Rourke, J. L., Muruganandan, S., Dranse, H. J., McMullen, N. M. & Sinal, C. J. Gpr1 is an active chemerin receptor influencing glucose homeostasis in obese mice. *J. Endocrinol.* 222, 201-15 (2014).
- 6) Fan, P. et al. Cloning and characterization of a novel human chemokine receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 243, 264-268 (1998).
- 7) Parolini, S. et al. The role of chemerin in the colocalization of NK and dendritic cell subsets into inflamed tissues. *Blood* 109, 3625-3632 (2007).
- 8) Ernst, M. C., Issa, M., Goralski, K. B. & Sinal, C. J. Chemerin exacerbates glucose intolerance in mouse models of obesity and diabetes. *Endocrinology* 151, 1998-2007 (2010).
- 9) Sell, H. et al. Chemerin is a novel adipocyte-derived factor inducing insulin resistance in primary human skeletal muscle cells. *Diabetes* 58, 2731-2740 (2009).
- 10) Goralski, K. B. et al. Chemerin, a novel adipokine that regulates adipogenesis and adipocyte metabolism. *J. Biol. Chem.* 282, 28175-88 (2007).
- 11) Takahashi, M. et al. Chemerin regulates β -cell function in mice. *Sci. Rep.* 1, 123 (2011).
- 12) Krautbauer, S. et al. Chemerin is highly expressed in hepatocytes and is induced in non-alcoholic steatohepatitis liver. *Exp. Mol. Pathol.* 95, 199-205 (2013).
- 13) Song, S. H. et al. Cloning, expression analysis, and regulatory mechanisms of bovine chemerin and chemerin receptor. *Domest. Anim. Endocrinol.* 39, 97-105 (2010).
- 14) Suzuki, Y. et al. Chemerin analog regulates energy metabolism in sheep. *Anim. Sci. J.* 83, 263-267 (2012).
- 15) Issa, M. E. et al. Chemokine-like receptor 1 regulates skeletal muscle cell myogenesis. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 302, C1621-31 (2012).
- 16) Y. Suzuki, S. Haga, D. Katoh, K.H. So, K.C. Choi, U.S. Jung, H.G. Lee, K. Katoh, S. G. R. Chemerin is a novel regulator of lactogenesis in bovine mammary epithelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2015).
- 17) Wanninger, J. et al. Adiponectin upregulates hepatocyte CMKLR1 which is reduced in human fatty liver. *Mol. Cell. Endocrinol.* 349, 248-54 (2012).
- 18) Sarah L. Giesy, Bohyung Yoon, W. Bruce Currie, J.

- W. K. & and Yves R. Boisclair. Adiponectin Deficit During the Precarious Glucose Economy of Early Lactation in Dairy Cows. *Endocrinology* 153, 5809–5820 (2012).
- 19) Zhang, R. Lipasin, a novel nutritionally-regulated liver-enriched factor that regulates serum triglyceride levels. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 424, 786–792 (2012).
 - 20) Yi, P., Park, J.-S. & Melton, D. a. Betatrophin: a hormone that controls pancreatic β cell proliferation. *Cell* 153, 747–58 (2013).
 - 21) Gusarova, V. et al. ANGPTL8/Betatrophin Does Not Control Pancreatic Beta Cell Expansion. *Cell* 159, 691–696 (2014).
 - 22) Jiao, Y., Le Lay, J., Yu, M., Naji, A. & Kaestner, K. H. Elevated mouse hepatic betatrophin expression does not increase human β -cell replication in the transplant setting. *Diabetes* 63, 1283–8 (2014).
 - 23) Ren, G., Kim, J. Y. & Smas, C. M. Identification of RIFL, a novel adipocyte-enriched insulin target gene with a role in lipid metabolism. *AJP Endocrinol. Metab.* 303, E334–E351 (2012).
 - 24) Quagliarini, F. et al. Atypical angiopoietin-like protein that regulates ANGPTL3. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109, 19751–6 (2012).
 - 25) Wang, Y. et al. Mice lacking ANGPTL8 (Betatrophin) manifest disrupted triglyceride metabolism without impaired glucose homeostasis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 16109–14 (2013).
 - 26) Wang, Y. et al. Mice lacking ANGPTL8 (Betatrophin) manifest disrupted triglyceride metabolism without impaired glucose homeostasis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 16109–14 (2013).
 - 27) Drackley, J. K. ADSA Foundation Scholar Award. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *J. Dairy Sci.* 82, 2259–2273 (1999).
 - 28) Haridas, P. a. N. et al. Regulation of angiopoietin-like proteins (ANGPTLs) 3 and 8 by insulin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* jc.2015–1254 (2015). doi:10.1210/jc.2015-1254