

研究成果報告書

研究テーマ (和文) AB		ケトン体に注目した空腹・飢餓アダプテーション機構の解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Fasting and starvation adaptation mechanisms through ketone body metabolism			
研究氏 代表名 者	カナ CC	姓)アリマ	名)ユウイチロウ	研究期間 B	2018～ 2019 年
	漢字 CB	有馬	勇一郎	報告年度 YR	2019年
	ローマ字 CZ	Arima	Yuichiro	研究機関名	熊本大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		熊本大学生命科学研究部 循環器内科学 助教			
<p>概要 EA (600字～800字程度にまとめてください。)</p> <p>本研究は、空腹・飢餓に対する個体の応答がどのように生じているのか、ケトン体代謝に注目して解析することを目的とした。様々なステージでのケトン体代謝を測定した結果、新生児期においては満腹状態においてもケトン体合成が亢進していることを確認した。</p> <p>しかしながら、その意義は明らかでなく、新生児期のケトン体合成の意義を明らかにするため、CRISPR/Cas9法を用いてケトン体合成の律速段階酵素であるミトコンドリア局在型 HMG-CoA synthase 2 の deletion mutant (<i>Hmgcs2</i> KO) を作成し、表現型を解析した。</p> <p><i>Hmgcs2</i> KO マウスは、ケトン体の一種であるβヒドロキシ酪酸(β OHB)の血中濃度が有意に低下していた。胎性期に致死性の変化は認めなかったが、出生後数日で肝腫大を示し、著名な小滴性脂肪沈着を認めた。電子顕微鏡ではミトコンドリアの変性所見も観察され、メタボローム解析を実施すると、アセチル CoA が蓄積しているにも関わらず、TCA 回路内の代謝産物や ATP などのエネルギー代謝産物は <i>Hmgcs2</i> KO で有意に低下しており、ミトコンドリア機能不全に矛盾しない所見であった。一方で、iMPAQT 法による定量プロテオミクス解析では、<i>Hmgcs2</i> KO マウスの方が野生型と比較してミトコンドリアタンパクの量が多い傾向にある結果となり、機能不全の原因としてタンパク発現量の減少ではなく、翻訳後修飾による活性低下の関与が示唆された。メタボローム解析の結果アセチル CoA が蓄積していたことから、ミトコンドリアタンパクのアセチル化を評価すると、<i>Hmgcs2</i> KO マウスで有意にミトコンドリアタンパクのアセチル化が亢進しており、機能低下の要因であることが示唆された。</p> <p>出産前後においては、栄養獲得手段が胎盤経由から授乳へと変化する。肝細胞が未成熟な状態で急速に増加する脂肪酸負荷に対して、ケトン体合成はアセチル CoA の蓄積を緩和し、ミトコンドリアタンパクを過度なアセチル化から回避することで保護的に作用すると考えられる。</p>					
キーワード FA	Ketone body	Hmgcs2	Acetylation	Mitochondria	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Developmental Origins of Health and Disease Theory in Cardiology							
	著者名 <sup>GA</sup>	Yuichiro Arima	雑誌名 <sup>GC</sup>	Journal of Cardiology					
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	In Press
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

欧文概要<sup>EZ</sup>

The purpose of this study was to analyze how individuals respond to hunger and starvation, focusing on ketone metabolism. As a result of measuring the metabolism of ketone bodies at various stages, it was confirmed that ketone body synthesis was enhanced in the neonatal period even in a satiety state.

However, its significance is not clear, and to clarify the significance of ketone body synthesis in the neonatal period, the deletion of mitochondrial localized HMG-CoA synthase 2, which is the rate-limiting enzyme of ketone body synthesis, using CRISPR / Cas9 method. A mutant (*Hmgcs2* KO) was prepared and its phenotype was analyzed.

*Hmgcs2* KO mice had significantly reduced blood levels of  $\beta$ -hydroxybutyric acid ( $\beta$  OHB), a kind of ketone body. Although no lethal change was observed during the fetal period, hepatomegaly was observed several days after birth, and marked droplet fat deposition was observed. Electron microscopy also showed mitochondrial denaturation findings, and metabolome analysis showed that metabolites in the TCA cycle and energy metabolites such as ATP were significantly reduced by *Hmgcs2* KO, despite the accumulation of acetyl-CoA. Findings consistent with mitochondrial dysfunction. On the other hand, quantitative proteomic analysis by the IMPAQT method showed that the amount of mitochondrial protein in *Hmgcs2* KO mice tended to be higher than that in wild-type mice. It was suggested that the modification could reduce the activity. Metabolome analysis indicated that acetyl-CoA had accumulated, and evaluation of mitochondrial protein acetylation suggested that mitochondrial protein acetylation was significantly increased in *Hmgcs2* KO mice, which was a factor in functional decline.

Before and after childbirth, the means of acquiring nutrition changes from transplacental to lactation. Ketone body synthesis may mitigate acetyl-CoA accumulation and protect mitochondrial proteins from excessive acetylation in response to the rapidly increasing fatty acid load in immature hepatocytes.