

生活習慣病の病態解明と分子標的の探索

群馬大学・秋田大学・名古屋大学 共同プロジェクト



平成30年度研究概要

生体の代謝制御機構の分子レベルでの解明とその応用

平成30年度研究概要

膵 α 細胞におけるグルコース/Naの共輸送体SGLT1のグルカゴン分泌制御に関わるメカニズムを解明し、新規糖尿病薬として臨床応用された種々のSGLT2阻害薬のSGLT2選択性の違いから、これらの薬剤のグルカゴン分泌への影響が異なることを解明した。今後の糖尿病患者の病態に合わせた薬剤選択につながる重要な知見として、Molecular Metabolism誌の2019年1月号の表紙にも採用された。

代表的論文

1. Suga T, Kikuchi O, Kobayashi M, Matsui S, Yokota-Hashimoto H, Wada E, Kohno D, Sasaki T, Takeuchi K, Kakizaki S, Yamada M, *Kitamura T. SGLT1 in pancreatic α cells regulates glucagon secretion in mice, possibly explaining the distinct effects of SGLT2 inhibitors on plasma glucagon levels. **Mol Metab** 19: 1-12, 2019.

生活習慣病の病態解明
と分子標的の探索

群馬大学・秋田大学・
名古屋大学
共同プロジェクト

北村 忠弘

群馬大学
生体調節研究所
代謝シグナル解析分野
教授

畑田 出穂

群馬大学
生体調節研究所
ゲノム科学リソース分野
教授

エピゲノムゲノム解析による生活習慣病関連遺伝子の探索

平成30年度研究概要

CRISPR/Cas9ゲノム編集法を応用した特定の遺伝子のDNAメチル化を消去する技術を開発し、その詳細なプロトコルを確立した。本技術によりDNAメチル化の異常によって起こる疾患の治療が可能になることが期待される。

代表的論文

1. Morita S, Horii T, Hatada I. Editing of DNA Methylation Using dCas9-Peptide Repeat and scFv-TET1 Catalytic Domain Fusions. *Methods Mol Biol.*, 2018;1767:419-428. doi: 10.1007/978-1-4939-7774-1_23. PMID: 29524149.

泉 哲郎

群馬大学
生体調節研究所
遺伝生化学分野
教授

分泌顆粒を細胞辺縁部に集積させてインスリンなどのホルモンを効率よく分泌させる仕組みを発見

平成30年度研究概要

これまで、脂肪細胞に発現するALK7という受容体シグナルが、脂肪分解を抑制することにより脂肪蓄積(肥満)を促進させる作用があることを発表してきた。本研究では、ALK7のリガンドが、脂肪組織マクロファージが産生するGDF3という分子で、インスリンがGDF3産生を亢進させることを発見した。このマクロファージを介するインスリン作用は、脂肪細胞に対する直接作用より鋭敏に働き、個体レベルにおいても主要な作用機序となっていた。本知見は、余分の栄養素を脂肪として蓄積する生理的機構とともに、その慢性的活性化により肥満が起きる病態についても、新たな分子機構を解明したものである。

代表的論文

1. Bu Y, Okunishi K, Yogosawa S, Mizuno K, Irudayam MJ, Brown CW, and Izumi T (2018). Insulin regulates lipolysis and fat mass in adipocytes by upregulating growth/differentiation factor 3 in adipose macrophages. *Diabetes*, 67, 1761-1772.

佐藤 健

群馬大学
生体調節研究所
細胞構造分野
教授

疾患動物モデルにおける代謝・分泌・発生の分子メカニズムの解析

平成30年度研究概要

線虫*C. elegans*とヒト肝細胞由来の培養細胞を用いて研究することにより、リポタンパク質が合成・分泌される過程で、小胞体からの輸出にSFT-4/Surf4ファミリータンパク質が積み荷受容体として働くことを発見した。一方、Rer1というタンパク質がゴルジ体における品質管理システムとして働くことにより、脳における γ -セクレターゼの活性を維持し、その結果、Notchシグナル経路を介した神経幹細胞数の維持し、脳の発生に貢献していることを発見した。

代表的論文

1. SFT-4/Surf4 control ER export of soluble cargo proteins and participate in ER exit site organization. Saegusa K, Sato M, Morooka N, Hara T, Sato K. *J. Cell Biol.* 2018 Jun 4;217(6):2073-2085.
2. Rer1-mediated quality control system is required for neural stem cell maintenance during cerebral cortex development. Hara T, Maejima I, Akuzawa T, Hirai R, Kobayashi H, Tsukamoto S, Tsunoda M, Ono A, Yamakoshi S, Oikawa S, Sato K. *PLoS Genet.* 2018 Sep 27;14(9):e1007647.

山下 孝之

群馬大学
生体調節研究所
遺伝子情報分野
教授

生活習慣病におけるDNA・蛋白損傷ストレス応答機構の役割

平成30年度研究概要

細胞の発がんや老化の制御に、種々のストレス応答系が重要な役割を果たしている。私たちは、c-Mycがん遺伝子活性化が誘導する複製ストレスへの耐性にPCNAのユビキチン化を介する損傷乗り越えDNAポリメラーゼPol-etaの動員が関与することを見出した。また、蛋白損傷ストレス応答に中心的な役割を果たす熱ショック転写因子HSF1がMDM2の抑制因子DHR23の発現を制御してp53依存性細胞老化を抑制することを見出した。

代表的論文

1. Kurashima K, [Sekimoto T](#), Oda T, Kawabata T, Hanaoka F, [*Yamashita T](#) (2018) Pol η , a Y-family translesion synthesis polymerase, promotes cellular tolerance of Myc-induced replication stress. *J Cell Sci* 131: jcs212183
2. Oda T, Sekimoto T, Kurashima K, Fujimoto M, Nakai A, [*Yamashita T](#) (2018) Acute HSF1 depletion induces cellular senescence through the MDM2-p53-p21 pathway in human diploid fibroblasts. *J Cell Sci* 131: jcs210724.

倉林 正彦

群馬大学大学院
医学系研究科
循環器内科学分野
呼吸器・アレルギー内科学分野
消化器・肝臓内科学分野
教授

不全心のエネルギー代謝の解明

平成30年度研究概要

心筋での脂肪酸の取り込みに重要なCD36遺伝子を欠損するマウスでは、野生型マウスに比し、心臓での糖の取り込みと解糖系代謝が代償的に増加し、大動脈縮窄による圧負荷(TAC)によってこれらはさらに増加すること、TACによる心肥大および心機能低下は、野生型マウスに比し、CD36欠損マウスでより顕著におこることを見出した。また、メタボローム解析から、取り込まれた糖はATP産生に利用されるよりも優先的に五単糖リン酸経路(PPP)を経て、核酸、NADPH, アミノ酸産生に利用されることを明らかにした。また、FABP4は糸球体で濾過され、近位尿細管でメガリン依存性に再吸収され、分解されることを示した。

代表的論文

- Umbarawan Y, Syamsunarno MRAA, Koitabashi N, Obinata H, Yamaguchi A, Hanaoka H, Hishiki T, Hayakawa N, Sano M, Sunaga H, Matsui H, Tsushima Y, Suematsu M, **Kurabayashi M**, Iso T. Myocardial fatty acid uptake through CD36 is indispensable for sufficient bioenergetic metabolism to prevent progression of pressure overload-induced heart failure. *Sci Rep*. 2018 Aug 13;8(1):12035
- Shrestha S, Sunaga H, Hanaoka H, Yamaguchi A, Kuwahara S, Umbarawan Y, Nakajima K, Machida T, Murakami M, Saito A, Tsushima Y, **Kurabayashi M**, Iso T. Circulating FABP4 is eliminated by the kidney via glomerular filtration followed by megalin-mediated reabsorption. *Sci Rep*. 2018;8(1):16451.

対馬 義人

群馬大学大学院
医学系研究科
放射線診断核医学分野
教授

MRIによる微小脳出血及び皮質微小梗塞検出

平成30年度研究概要

脳微小出血の出現頻度と発生部位について欧米とアジアにおいて検討し、アジア人種では基底核/視床およびテント下に多く認められ、発生機序に人種あるいは生活習慣等による違いがあることを示した。また、DIRシーケンスを応用したWAIRの最適化についてほぼ完成をみたが、新たな試みとして、MAGnetic image Compilation (MAGiC)シーケンスを用いた画質向上を試みている。

代表的論文

- Yakushiji Y, Wilson D, Ambler G, Charidimou A, Beiser A, van Buchem MA, DeCarli C, Ding D, Gudnason V, Hara H, Imaizumi T, Kohara K, Kwon HM, Launer LJ, Mok V, Phan T, Preis SR, Romero JR, Seshadri S, Srikanth V, Takashima Y, Tsushima Y, Wang Z, Wolf PA, Xiong Y, Yamaguchi S, Werring DJ. Distribution of cerebral microbleeds in the East and West: Individual participant meta-analysis. *Neurology* 2019; 92:e1086-e1097.

村上 正巳

群馬大学大学院
医学系研究科
臨床検査医学分野
教授

臨床検体およびモデルマウスを用いた生活習慣病のバイオマーカーの分析と遺伝子解析

平成30年度研究概要

リポ蛋白リパーゼ(LPL)は脂肪細胞や筋細胞で合成・分泌され、毛細血管内皮細胞表面に存在するアンカー蛋白であるGlycosylphosphatidylinositol anchored high density lipoprotein binding protein 1 (GPIHBP1)によって血管内腔に移送され、カイロミクロンなどのTG-richリポ蛋白を代謝する。我々は、血中LPLならびにGPIHBP1の測定系を開発して脂質代謝の病態の解明を進めている。その研究の過程で、従来ダイマーとして機能を発揮すると考えられていたLPLがモノマーとして活性を発揮すること(Proc Natl Acad Sci USA 116:6319-6328, 2019)、インターフェロン治療中に抗GPIHBP1自己抗体による高TG血症を発症した症例(J Clin Lipidol 13:62-69, 2019)を報告した。

代表的論文

1. Beigneux AP, Allan CM, Sandoval NP, Cho GW, Heizer PJ, Jung RS, Stanhope KL, Havel PJ, Birrane G, Meiyappan M, Gill JE 4th, Murakami M, Miyashita K, Nakajima K, Ploug M, Fong LG, Young SG. Lipoprotein lipase is active as a monomer. Proc Natl Acad Sci U S A 116:6319-6328, 2019
2. Eguchi J, Miyashita K, Fukamachi I, Nakajima K, Murakami M, Kawahara Y, Yamashita T, Ohta Y, Abe K, Nakatsuka A, Mino M, Takase S, Okazaki H, Hegele RA, Ploug M, Hu X, Wada J, Young SG, Beigneux AP. GPIHBP1 autoantibody syndrome during interferon α 1a treatment. J Clin Lipidol 13:62-69, 2019.

山田 正信

群馬大学大学院
医学系研究科
内分泌代謝内科学分野
教授

Dapagliflozinの近位尿細管細胞株HK-2細胞における小胞体ストレス調節機構解明

平成30年度研究概要

糖尿病性腎症においてSGLT2阻害薬の腎保護作用に小胞体ストレス応答調節が関与するか検討した。近位尿細管細胞株HK2細胞にSGLT2阻害薬Dapagliflozinを添加後、elf2 α リン酸化、ATF6切断、IRE1 α リン酸化を検討した結果、elf2 α リン酸化のみDapagliflozinで低下し、その下流のATF4、CHOPの発現、さらにcaspase3活性の低下も認めた。また肥満2型糖尿病モデルであるdb/dbマウスにDapagliflozinを投与し同様の結果を得た。以上よりSGLT2阻害薬の小胞体ストレス応答を介した腎保護作用が示唆された。

代表的論文

Shibusawa R, Yamada E, Okada S, Nakajima Y, Bastie C Claire, Maeshima A, Kaira K, Yamada M. Dapagliflozin rescues endoplasmic reticulum stress-mediated cell death. Scientific Reports, under review

石谷 太

群馬大学
生体調節研究所
個体統御システム分野
教授

小型魚類を用いた組織恒常性維持機構の解明

平成30年度研究概要

ゼブラフィッシュ成魚の脳をモデルとした解析により、損傷した脳の再生におけるソニックヘッジホッグシグナルとNotchシグナルの関与を明らかにした(J. Comp. Neurol., 2018)。

代表的論文

Ueda Y, Shimizu Y, Shimizu N, **Ishitani T**, Ohshima T. Involvement of Sonic hedgehog and Notch signaling in regenerative neurogenesis in adult zebrafish optic tectum after stab injury. *J. Comp. Neurol.* 526(15): 2360-2372, 2018 doi: 10.1016/j.nbd.2018.10.014.

横山 知行

群馬大学大学院
保健学研究科
生体情報検査科学講座
教授

モデル動物を用いた肥満による心不全および動脈硬化の解析

平成30年度研究概要

脂肪酸が利用出来ないモデルであるCD36欠損マウスを用いて、空腹時の運動負荷に対する影響を検討した。食餌をした状態では運動量はWild typeとCD36欠損マウスでは変化がなかったが、空腹ではCD36欠損マウスは運動量が著明に減少した。CD36欠損マウスではエネルギー基質として脂質が利用出来ず、空腹時には糖質の利用も限られるため、エネルギー枯渇により運動量が著減するものと考えられた。本研究からCD36が運動時の骨格筋でのエネルギー供給に重要であることが明らかになった。

代表的論文

1. CD36 is indispensable for nutrient homeostasis and endurance exercise capacity during prolonged fasting
Iso, T. Haruyama, H. Sunaga, H. Matsui, H. Tanaka, R. Umbarawan, Y. Syamsunarno, Mraa Putri, M. Yamaguchi, A. Hanaoka, H. Negishi, K. Yokoyama, T. Kurabayashi, M.
Physiol Rep 2018;6:e13884

井上 裕介

群馬大学大学院
理工学府
分子科学部門
准教授

核内受容体による代謝制御機構の解明

平成30年度研究概要

核内受容体HNF4 γ の新規アイソフォームであるHNF4 γ 2を同定した。HNF4 γ 2は肝臓のマスター因子、かつ肝細胞癌抑制因子であるHNF4 α よりも転写活性化能が高く、ヒト肝細胞がん細胞においてHNF4 α よりも肝細胞マーカーの発現を誘導することを明らかにした。以上より、HNF4 γ 2は肝細胞癌の再分化を強く誘導することが示唆され、肝細胞癌の治療への応用が期待できる。

代表的論文

1. Sasaki S, Hara A, Nangaku M, Sakaguchi M, Inoue Y. Hepatocyte nuclear factor 4 α regulates megalin expression in proximal tubular cells. **Biochem Biophys Rep** 17: 87-92, 2019.

武田 茂樹

群馬大学大学院
理工学府
分子科学部門
教授

GPCRを対象としたインスリン分泌促進物質の開発

平成30年度研究概要

さまざまな脂質やその代謝物は糖代謝に関わり糖尿病との関連が研究されている。アラキドン酸の代謝物である12(S)-hydroxyeicosatetraenoic acid (12-HETE)もシグナル伝達に関わる脂質であると考えられていて、さまざまな生理機能が報告されている。12-HETEの受容体はGPCRの一種であるGPR31と報告されているが、我々はGPR31が膵臓に発現していることから12-HETEやGPR31のインスリン分泌や糖代謝との関連を検討している。今回我々は、さまざまな検討の中から、我々はGPR31が酸性条件下で活性化されることを見出した。同様にして、内在性リガンドが不明であったGPR151も酸性条件下で活性化されることを見出した。これまでいくつかのプロトン感受性のチャンネル型受容体やGPCRが報告されてきたが、GPR31やGPR151は新たな生体内プロトンセンサーであると考えられる。

山崎 正和

秋田大学大学院
医学系研究科
細胞生物学講座
教授

モデル生物を用いたRNAiスクリーニング

平成30年度研究概要

我々は、新規PCP制御グループ(Jitterbug(Jbug)グループ)の構成因子を複数同定し、それらの機能解析を行ってきた。本年度は、分子遺伝学的手法を駆使して、本グループに属する、これまでに未解析の因子の機能を解析した。また、ショウジョウバエ背板上皮を用いた長時間のライブイメージングを実施し、Jbugグループを介したPCP制御機構に関する新たな知見を見出した(投稿準備中)。

林 良敬

名古屋大学
環境医学研究所
発生遺伝分野
准教授

プログルカゴン由来ペプチドと代謝制御異常

平成30年度研究概要

グルカゴン遺伝子欠損マウス(グルカゴン遺伝子-GFPノックインマウスのホモ接合体)において、グルカゴン作用の欠損により血中アミノ酸濃度が上昇し α 細胞の増殖が促進されることを明らかとし、グルカゴンが糖代謝よりアミノ酸代謝の恒常性維持においてより特異的かつ重要な役割を果たすことを提唱してきた。このほかにグルカゴンがニコチンアミド代謝酵素の発現を制御していることに着目し、同酵素の遺伝子改変動物モデルを作成し、その表現型解析を進めている。

代表的論文

1. Hayashi Y, Seino Y, Regulation of amino acid metabolism and alpha cell proliferation by glucagon. **J Diabetes Invest** 9:464-472, 2018
2. Maekawa R, Ogata H, Murase M, Harada N, Suzuki K, Joo E, Sankoda A, Iida A, Izumoto T, Tsunekawa S, Hamada Y, Oiso Y, Inagaki N, Arima H, Hayashi Y, **Seino Y** Glucose-dependent insulinotropic polypeptide is required for moderate high fat diet, but not high carbohydrate diet-induced weight gain. **Am J Physiol Endocrinol Metab** 314:E572-583, 2018.

藤谷 与士夫

群馬大学
生態調節研究所
分子糖代謝制御分野
教授

糖代謝を制御する膵島と脂肪組織における細胞運命制御の解明

平成30年度研究概要

ヒトにおいてエーラス・ダンロス症候群の原因遺伝子として報告されている、亜鉛トランスポーターZip13を欠損したマウス(Zip13欠損マウス)の白色脂肪組織ではベージュ脂肪細胞数が増加し、酸素消費量が有意に亢進し、そのため高脂肪食を与えても太りにくいことを見出した。現在、Zip13の下流で機能する候補分子を同定し、その解析を進めている。新たな脂肪細胞ベージュ化制御経路の同定は、肥満糖尿病に対する新規治療法の開発に寄与する可能性がある。一方で、膵ラ氏島に少数存在するPP細胞(γ 細胞)に対する特異抗体を作製するとともに、PP細胞研究に有用なマウスを多数開発した。現在、PP細胞が β 細胞の前駆細胞として機能する可能性を見出し、さらに機能解析を進めている。

代表的論文

1. Fukunaka A, Fukada T, Bhin J, Suzuki L, Tsuzuki T, Takamine Y, Bin BH, Yoshihara T, Ichinoseki-Sekine N, Naito H, Miyatsuka T, Takamiya S, Sasaki T, Inagaki T, Kitamura T, Kajimura S, Watada H, **Fujitani Y**. Zinc transporter ZIP13 suppresses beige adipocyte biogenesis and energy expenditure by regulating C/EBP- β expression. *PLoS Genet*. 2017 ;13(8):e1006950.
2. Fukunaka A, **Fujitani Y**. Role of Zinc Homeostasis in the Pathogenesis of Diabetes and Obesity. *Int J Mol Sci*. 2018;19. pii: E476.
3. Hara A, Nakagawa Y, Nakao K, Tamaki M, Ikemoto T, Shimada M, Matsuhisa M, Mizukami H, Maruyama N, Watada H, **Fujitani Y**. Development of monoclonal mouse antibodies that specifically recognize pancreatic polypeptide. *Endocr J*. 2019 in press.

林(高木) 朗子

群馬大学
生体調節研究所
脳病態制御分野
教授

脳高次機能を可視化・操作する光学技術

平成30年度研究概要

神経回路の基本素子であるシナプスは活動依存性に増大・縮退をすることで神経回路を動的に改変することが知られている。このようなシナプスの可塑性がの異常を、うつ病モデルマウスおよび統合失調症モデルマウスで検証した。また全脳レベルの解析のためには、脳の透明化技術の改良が必要であり、これを行い報告した。

代表的論文

- Chemical Landscape for Tissue Clearing Based on Hydrophilic Reagents.
Tainaka K, Murakami TC, Susaki EA, Shimizu C, Saito R, Takahashi K, Hayashi-Takagi A, Sekiya H, Arima Y, Nojima S, Ikemura M, Ushiku T, Shimizu Y, Murakami M, Tanaka KF, Iino M, Kasai H, Sasaoka T, Kobayashi K, Miyazono K, Morii E, Isa T, Fukayama M, Kakita A, Ueda HR. *Cell Rep*. 2018 Aug 21;24(8):2196-2210.
- Synaptic functions and their disruption in schizophrenia: From clinical evidence to synaptic optogenetics in an animal model
Kisho Obi-Nagata, Yusuke Tenma, Akiko Hayashi-Takagi
Proceedings of the Japan Academy, Ser. B (in press)
7(1):7133. 2017.

高稲 正勝

群馬大学
未来先端研究機構
シグナル伝達研究プログラム
助授

細胞内エネルギー代謝恒常性維持機構の解明

平成30年度研究概要

細胞のエネルギー通貨と呼ばれるATPは全ての生物にとって重要な代謝産物である。しかし単一細胞内におけるATP動態については、極めて限られた知見しか得られていなかった。我々はATPレポーターQUEENを最適化することで酵母生細胞においてATP動態を高精度かつ高時空間分解能で観測する実験系を構築した。この系を利用した研究により、細胞内エネルギー代謝恒常性の理解が促進することが期待される。

代表的論文

*Takaine M, Ueno M, Kitamura K, Imamura H and *Yoshida S.
Reliable imaging of ATP in living budding and fission yeast.
Journal of Cell Science, 10.1242/jcs.230649, 2019, in press

稲垣 毅

群馬大学
生体調節研究所
代謝エピジェネティクス分野
教授

ヒストン修飾酵素による生体のエネルギー代謝制御機構の解明

平成30年度研究概要

褐色脂肪での寒冷急性期熱産生と白色脂肪ベージュ化による長期寒冷時熱産生機構を比較し、新規エピゲノム機構を見出した。外部環境刺激を感知したエピゲノム因子が翻訳後修飾をうけて複合体を形成すると、(1)クロマチン構造を変化させて急性期の転写制御に関わるとともに、(2)標的遺伝子領域にリクルートされたエピゲノム酵素が遷延化刺激で活性を発揮し、長期の転写制御記憶につながるという二段階制御機構を見出した。

代表的論文

Tanimura K, Suzuki T, Vargas D, Shibata H, **Inagaki T***. Epigenetic regulation of beige adipocyte fate by histone methylation. *Endocr. J.* 66(2):115-125, 2019
Inagaki T*. Histone demethylases regulate adipocyte thermogenesis. *Diabetol. Int.* 9(4): 215-223, 2018
Abe Y, Fujiwara Y, Takahashi H, Matsumura Y, Sawada T, Jiang S, Nakaki R, Uchida A, Nagao N, Naito M, Kajimura S, Kimura H, Osborne TF, Aburatani H, Kodama T, **Inagaki T***, Sakai J.* Histone demethylase JMJD1A coordinates acute and chronic adaptation to cold stress via thermogenic phospho-switch. *Nat. Commun.* 9(1):1566, 2018