

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

令和 3年 3月31日

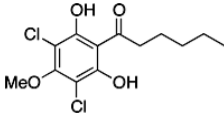
群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 順天堂大学スポーツ健康科学部
職 名 教授
研究代表者 久保原 禪

下記のとおり令和2年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 20010)

| | | | | |
|-------------------------|---|-------------------------------------|--------------|---|
| 1. 共同研究課題名 | 新規肥満・糖尿病治療薬の開発とその作用機序解析 | | | |
| 2. 共同研究目的 | <p>近年、我々は細胞性粘菌由来の化合物 DIF-1(右図)とその誘導体が哺乳類細胞の糖代謝を促進することを見いだした。本共同研究では、DIF-1 をリード化合物とした新規肥満・糖尿病治療薬の開発を目指すと共に、それら薬剤の作用機序を解析する。</p> <p>肥満・糖尿病等の生活習慣病は世界的に増加傾向にあり、それらの治療薬開発の意義は大きい。</p> | | |  |
| 3. 共同研究期間 | 令和2年 4月 1日 ~ 令和3年 3月31日 | | | |
| 4. 共同研究組織 | | | | |
| 氏 名 | 所属部局等 | 職名等 | 役割分担 | |
| (研究代表者) 久保原 禪 | スポーツ健康科学部/大学院スポーツ健康科学研究科 | 職名:教授 学位:理学博士 取得年月日:1991.5.23 | 研究の総括 | |
| (分担研究者) 平山 愛梨 | 大学院スポーツ健康科学研究科 | 大学院生 | 薬剤作用に係る実験・解析 | |
| 5. 群馬大学生体調節研究所の共同研究担当教員 | 分野名 | 代謝エピジェネティクス分野 | 氏 名 | 柴田 宏 |

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

6. 共同研究計画

#強い活性を有するDIF-1とDIF-1(3M)を用いて以下を進める。とりわけ「DIF刺激によってGLUT1が細胞膜へ移行する仕組み」を解明したい。AMP kinaseの活性とDIFの作用の関連も検証する。

●Western blot法、RNAi法による解析

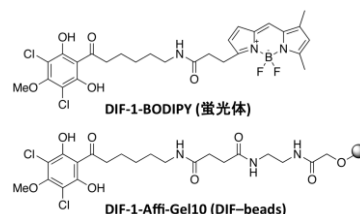
Confluent状態のマウス3T3L1細胞(モデル正常細胞)を±DIFで培養し、タンパク質や核酸を回収後、シグナル伝達関連タンパク質等の発現や活性変化を、Western blot法、RNAi法等を利用して解析する。

●メタボローム解析

3T3L1細胞を±DIFで培養後、細胞内の代謝物(低分子)を回収し、メタボローム解析を行う。→DIFによる代謝(解糖系/TCA サイクル等)への影響を解析する(すでに一部解析済[Life Sci. 2016])。

●DIF-binding proteins (DBPs)の同定と細胞内局在の解析

DIF-1-BODIPYやDIF-beads(右図:合成済み)を利用して、DBPsの同定や細胞内局在の解析を進める。

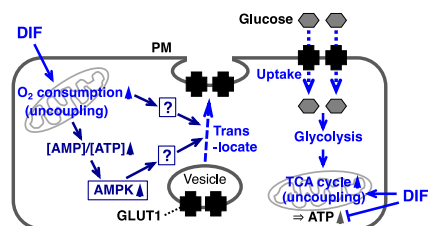
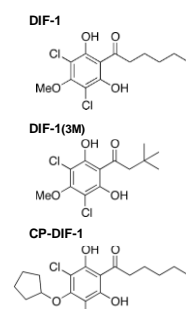


→上記の解析結果を基に新たなDIF誘導体のデザインと合成を行う(東北大学院薬学研究科にて)

7. 共同研究の成果

今回我々はDIF-1, DIF-1(3M), CP-DIF-1(右図)を用いて、以下を明らかにした。

- 1) マウス肝細胞から単離したミトコンドリアの酸素消費に対するDIFsの効果を検討し、DIF-1とDIF-1(3M)はミトコンドリア酸素消費を促進する一方、CP-DIF-1はミトコンドリア酸素消費に影響しないことを示した。→DIF-1とDIF-1(3M)はミトコンドリア脱共役剤であることが示された。
- 2) マウス3T3-L1細胞の糖消費に対するDIFsの効果を検討し、DIF-1とDIF-1(3M)は糖消費を促進し、CP-DIF-1は糖消費に影響しないことを示した。
- 3) 3T3-L1細胞のAMP kinase (AMPK)活性に対するDIFsの効果をWestern blot法で検討し、DIF-1とDIF-1(3M)はAMPKを活性化する一方、CP-DIF-1は影響しないことを示した。
- 4) AMPK阻害剤やAMPK knock downによって、3T3-L1細胞におけるDIFsによる糖代謝促進効果が一部抑制されることを見出した。
- 5) メタボローム解析の結果、DIF-1とDIF-1(3M)はTCAサイクルを促進することが示された。
- 6) 以上より、ミトコンドリア脱共役活性を有するDIF-1とDIF-1(3M)による糖代謝促進作用には少なくとも一部AMPKが関与することが明らかとなった(右模式図)。
- 7) DIF-binding proteinsの単離・同定は現在も進めている。



8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換(本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文, 又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお, 論文の場合は, 別刷りを1部提出して下さい。)

①本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

Kubohara Y, Homma Y, Shibata H, Oshima Y, Kikuchi H. *Dictyostelium* differentiation-inducing factor-1 promotes glucose uptake, at least in part, via an AMPK-dependent pathway in mouse 3T3-L1 cells. *Int. J. Mol. Sci.* 22(5), 2293. (2021).

②この共同研究に基づくとの記載のある論文

Kubohara Y, Homma Y, Shibata H, Oshima Y, Kikuchi H. *Dictyostelium* differentiation-inducing factor-1 promotes glucose uptake, at least in part, via an AMPK-dependent pathway in mouse 3T3-L1 cells. *Int. J. Mol. Sci.* 22(5), 2293. (2021).

③学会発表を行った主なもの3件以内(学会名、開催日、演題)

日本細胞性粘菌学会第10回例会 2020年10月17日「DIF-1による糖代謝促進作用とAMP kinase」

④本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況(主なやり取りを箇条書き)

- ・メール連絡等によるデータの共有と議論
- ・論文作成時の議論等