

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



令和元年度研究概要

生体の代謝制御機構の分子レベルでの解明とその応用

令和元年度研究概要

糖尿病薬として臨床応用されているDPP4阻害薬のAnagliptinが視床下部のレプチン感受性を高めて食欲を抑制し、食事性肥満を改善することを動物実験で明らかにした。また、正確なグルカゴン測定系を用いた解析で、2型糖尿病患者はグルカゴン分泌異常をきたしていることを明らかにした。

代表的論文

1. Kohno D, Furusawa K, Kitamura T. Anagliptin suppresses diet-induced obesity through enhancing leptin sensitivity and ameliorating hyperphagia in high-fat high-sucrose diet fed mice. **Endocr J** in press.
2. Ichikawa R, Takanao K, Fujimoto K, Motomiya T, Kobayashi M, Kitamura T, Shichiri M. Basal glucagon hypersecretion and response to oral glucose load in prediabetes and mild type 2 diabetes. **Endocr J**. 66: 663-675, 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

令和元年度研究概要

特定の遺伝子を過剰発現させることは、基礎研究から治療への応用まで、一般的なアプローチである。しかし、外因性遺伝子を過剰発現させる従来のアプローチでは、ゲノムを完全に網羅することが困難であり、また、ウイルスベクターのクローニング能力にも限界がある。そこで、人工転写活性化剤を用いて内因性遺伝子の発現を誘導する方法が考えられている。dCas9と転写活性化ドメインの融合タンパク質、例えばdCas9-VP64は、内因性遺伝子の活性化に広く用いられている。しかし、単一のsgRNAを用いた場合、活性化範囲が低い。したがって、ロバストな転写活性化には、複数のsgRNAのタイリングが必要である。そこでdCas9-SunTagを用いて、TET1との遺伝子発現の最高の相乗活性化を示す因子のスクリーニングをおこなった。検討した7つの因子すべてがTET1と何らかの相乗効果を示しましたが、その中で、VP64が最も優れた結果を示しました。このように、最適化された dCas9-SunTag フォーマットを用いて、標的遺伝子への VP64 と TET1 の同時テザリングは、単一の sgRNA を用いて遺伝子発現を相乗的に活性化する。本システムは今後遺伝子治療のフォーマットに応用されることが期待される。

代表的論文

1. Morita S, Horii T, Kimura M, Hatada I. Synergistic Upregulation of Target Genes by TET1 and VP64 in the dCas9-SunTag Platform. *Int J Mol Sci*. 21: E1574, 2020.

泉 哲郎

群馬大学
生体調節研究所
遺伝生化学分野
教授

植物由来の物質Coixolがグルコース依存性インスリン分泌促進作用があることを発見

令和元年度研究概要

ゴマノハグサ属多年草から抽出されるcoixolという物質が、刺激非存在下の基礎インスリン分泌には影響を及ぼさないが、グルコース依存性の追加インスリン分泌を促進させる作用があることを見出した。その作用機序を検討したところ、cAMP-Aキナーゼ系、特にcAMPを分解するphosphodiesterase活性を抑制することにより、インスリン分泌を増大させることが示唆された。本研究は、パキスタンのカラチ大学Hafizur博士らとの共同研究である。

代表的論文

1. Hameed A, Hafizur RM, Kahn MI, Jawed A, Wang H, Zhao M, Matsunaga K, Izumi T, Siddiqui S, Khan F, Adhikari A, and Sharma KR (2019). Coixol amplifies glucose-stimulated insulin secretion via cAMP mediated signaling pathway. *Eur. J. Pharmacol.*, 858, 172514.

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

令和元年度研究概要

放射線総合医学研究所の塚本智史博士と共同研究を行い、マウスの卵子から生きたまま脂肪滴を分離する技術を開発した。この技術を用いて脂肪滴を人為的に欠損させ、脂肪合成を阻害させると受精卵の発育が止まり、脂肪滴を過剰にすると正常に発育する受精卵の割合が半分になることを発見した。本研究で開発した技術を応用して、脂肪滴の量と卵子の質や不妊との関係を明らかにすることにより、卵子や受精卵の質の科学的な評価法の開発などにつながることを期待される。

代表的論文

1. Aizawa R, Ibayashi M, Tatsumi T, Yamamoto A, Kokubo T, Miyasaka N, Sato K, Ikeda S, Minami N, Tsukamoto S. (2019) Synthesis and maintenance of lipid droplets are essential for mouse preimplantation embryonic development. *Development*. 146(22): DOI: 10.1242/dev.181925.

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

令和元年度研究概要

DNA複製ストレス応答の特徴を利用するがん治療開発が注目を集めている。私たちは、クロマチン・リモデリング因子SMARCA4を欠損する肺がん細胞が、複製ストレス応答分子ATRの阻害剤に対して高い感受性を示すことを見出した。また、がん遺伝子Mycの活性化が複製ストレスの原因となるDNA中のグアニン四重鎖構造(G4)を増加させており、G4安定化化合物に対する感受性を増強することを見出した。

代表的論文

1. Kurashima K, Kashiwagi H, Shimomura I, Suzuki A, Takeshita F, Mazevet M, Harata M Yamashita T, Yamamoto Y, Kohno T, Shiotani B *SMARCA4* deficiency-associated heterochromatin induces intrinsic DNA replication stress and susceptibility to ATR inhibition in lung adenocarcinoma. *NAR Cancer* (in press)

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

急性虚血心筋のエネルギー代謝の解明

令和元年度研究概要

FGF (Fibroblast growth factor)ファミリーに属するFGF21は主に肝臓から産生される蛋白で、全身における脂肪酸酸化や糖代謝の亢進を誘導し、肥満症や糖・脂質代謝異常を改善する薬理作用を有する。また、FGF21欠損マウスでの解析から、FGF21は抗酸化作用を持ち、ミトコンドリア機能を保持し、心肥大を抑制作用する作用も報告されている。しかし、FGF21が心臓エネルギー代謝を調節するか否かについてはこれまで全く不明である。私たちは、心不全および急性心筋梗塞(AMI)患者でFGF21が著明に上昇すること、マウスの心筋梗塞モデルでの検討から、FGF21が心筋細胞でAMPK(AMP-activated protein kinase)の活性化を介して、急速に発現誘導され、分泌されることを見出した。FGF21はオートクライン機構で心筋細胞に作用してミトコンドリア合成やマイトファジーに関わる蛋白合成を促進することも明らかにした。また、急性心筋梗塞に対して緊急カテーテル治療を行った患者213名において、スタチンの投与が心臓交感神経活性の亢進を抑制することを心臓核医学検査MIBGを用いて明らかにした。示した。

代表的論文

1. Sunaga H, Koitabashi N, Iso T, Matsui H, Obokata M, Kawakami R, Murakami M, Yokoyama T, Kurabayashi M. Activation of cardiac AMPK-FGF21 feed-forward loop in acute myocardial infarction: Role of adrenergic overdrive and lipolysis byproducts. Sci Rep. 2019 Aug 14;9(1):11841.
2. Takahashi S, Kasama S, Toyama T, Suzuki S, Ito Y, Nakata T, Kasahara M, Kurabayashi M. Assessment of therapeutic effects of statin on cardiac sympathetic nerve activity after reperfusion therapy in patients with first ST-segment elevation myocardial infarction and normal low-density lipoprotein cholesterol. J Nucl Cardiol. 2019

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

令和元年度研究概要

虚血による大脳白質病変の評価には、従来T2強調画像あるいはFluid -attenuated inversion recovery (FLAIR)シーケンスが使用されていたが、われわれが工夫したDouble inversion recovery (DIR)シーケンスは白質・灰白質の分離がよく、病変部のコントラストにも優れている。この新たなシーケンスを用いた定量的白質病変評価の自動化を試み、臨床診断に貢献し得ることを示した。

代表的論文

1. Hayashi N, Sato Y, Maruyama T, Shimoyama Y, Motegi S, Ujita K, Kumasaka S, Ogura A, Ogura T, Tsushima Y. Development of a quantitative statistical analysis system for double inversion recovery (DIR) MRI: A preliminary clinical study. **Technol Health Care**. [Epub ahead of print]

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

令和元年度研究概要

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。若年日本人男性を対象とした研究において、骨格筋量の増加と血中LPLならびにGPIHBP1濃度が正の相関を示し、その結果TG分解を促進してエネルギー代謝を改善する可能性が示唆された(Lipids in Health and Disease 18:84, 2019)。また、抗GPIHBP1自己抗体による間欠性の高TG血症を発症した症例を報告した(J Clin Lipidol 14:197-200, 2020)。

代表的論文

1. Matsumoto R, Tsunekawa K, Shoho Y, Yanagawa Y, Kotajima N, Matsumoto S, Araki O, Kimura T, Nakajima K, Murakami M. Association between skeletal muscle mass and serum concentrations of lipoprotein lipase, GPIHBP1, and hepatic triglyceride lipase in young Japanese men. *Lipids Health Dis.* 18(1):84, 2019
2. Ashraf AP, Miyashita K, Nakajima K, Murakami M, Hegele RA, Ploug M, Fong LG, Young SG, Beigneux AP. Intermittent chylomicronemia caused by intermittent GPIHBP1 autoantibodies. *J Clin Lipidol.* 14(2):197-200, 2020

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

FAM19A2/TAFA-2の機能解析

令和元年度研究概要

FAM19A2/TAFA-2はケモカインCC族に属する新しい分子でその機能は知られていない。我々は、正常マウスの第3脳室にFAM19A2/TAFA-2を250pMで投与してメタボリックケージでその機能を解析した。その結果、暗期における摂食量とエネルギー消費量を増加させることを見出した。FAM19A2/TAFA-2は生活習慣病、特に肥満の原因解明や新しい治療法の開発に結びつく可能性がある新規分子であることを報告した。

代表的論文

1. Junichi Okada, Eijiro Yamada, Yawara Nijima, Shuichi Okada, Masanobu Yamada. Comparison of serum amylase between Dipeptidyl Peptidase-4 inhibitor and GLP-1 analog administration in patients with type 2 diabetes mellitus. *J. Health Popul. Nutr.* 2019. Nov 14;38(1):33. doi: 10.1186/s41043-019-0197-x. IF: 1.828
2. Junichi Okada, Eijiro Yamada, Tsugumichi Saito, Atsushi Ozawa, Yasuyo Nakajima, Jeffrey E. Pessin, Shuichi Okada, Masanobu Yamada. Analysis of FAM19A2/TAFA-2 function. *Physiology & Behavior.* 2019. Sep 1;208:112581. doi: 10.1016/j.physbeh.2019.112581. Epub 2019 Jun 17. IF: 2.635

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

令和元年度研究概要

小型魚類ゼブラフィッシュを使った超高感度イメージングにより、正常な胚において細胞機能が破綻した不良細胞が頻繁に生じることと、この不良細胞が細胞競合により除去されることで胚組織の恒常性が維持されることを示した (Akieda et al., Nature Commun 2019)。また、ゼブラフィッシュおよびメダカを用いたイメージング解析により、背側の細胞と腹側の細胞が混じり合うのを防ぐ新たな分子システムを解明した (Abe et al., Cell Rep 2019)。

代表的論文

1. Akieda Y, Ogamino S, Furuie H, Ishitani S, Akiyoshi R, Nogami J, Masuda T, Shimizu N, Ohkawa Y and *[Ishitani T](#), Cell competition corrects noisy Wnt morphogen gradients to achieve robust patterning in the zebrafish embryo. Nature Commun. 2019;10:4710
Abe K, Shimada A, Tayama S, Nishikawa H, Kaneko T, Tsuda S, Karaiwa A, Matsui T, [Ishitani T](#) and *Takeda H, Horizontal Boundary Cells, a Special Group of Somitic Cells, Play Crucial Roles in the Formation of Dorsoventral Compartments in Teleost Somite. Cell Rep. 2019;27:928-939.

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

令和元年度研究概要

代謝ホルモンの1つであるFibroblast growth factor 21 (FGF21)の急性心筋梗塞での役割を急性梗塞患者血清中のFGF21、fatty acid protein 4 (FABP4)、脂肪酸分画の比較で検討した。急性心筋梗塞患者の血清FGF21濃度はFABP4や飽和脂肪酸濃度と相関した。さらにマウス動物実験では心筋虚血により心臓のFGF21産生がAMPK依存系路により誘導されることが明らかになった。この結果から、アドレナリン刺激により脂肪酸融解を介してAMPK誘導FGF21産生が促進され心筋保護作用を有することが推察された。

代表的論文

1. Sunaga, H. Koitabashi, N. Iso, T. Matsui, H. Obokata, M. Kawakami, R. Murakami, M.Yokoyama, T. Kurabayashi, M. Activation of cardiac AMPK-FGF21 feed-forward loop in acute myocardial infarction: Role of adrenergic overdrive and lipolysis byproducts. **Sci Rep** 9(1) 11841 2019

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

令和元年度研究概要

核内受容体HNF4 α は肝臓で高発現しており、肝臓特異的HNF4 α 欠損マウス(KOマウス)は脂肪肝を示すことが明らかになっている。そこで脂肪肝の発症機序を解明するために、脂肪的の伸張に必須なCIDEファミリーの発現解析を行ったところ、KOマウスでFsp27bの発現が顕著に低下することが分かった。さらに、Fsp27bの発現はプロモーター上のHNF4 α 結合配列とHNF4 α の発現に依存し、HNF4 α が発現制御するCREBHにより、Fsp27bの発現はさらに誘導されることが分かった。以上より、HNF4 α -CREBH-Fsp27b経路は肝細胞において脂肪滴の慎重に重要な役割を担っていることが示唆された(投稿中)。期待できる。

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

令和元年度研究概要

腸内細菌が産生する短鎖脂肪酸などはインスリン分泌にかかわるため、腸内フローラの変化が血糖値の維持にあたえる影響が議論されている。腸内フローラの変化には腸内細菌に感染するウイルス(バクテリオファージ)が関与するため、さまざまな腸内細菌に感染するMuファージの構造解析を行った。Muファージが感染の際に宿主を認識するタンパク質である尾繊維とその分子シャペロンの複合体のX線結晶解析を行い、立体構造を決定した(この成果は世界で初めての分子シャペロンとその基質タンパク質の複合体の立体構造解析である)。また、尾繊維の抗体を調製した。この抗体をもちいて腸内フローラを変化させたときに生じる腸内細菌分泌物の変化、変化した分泌物をリガンドとするGタンパク質共役受容体の同定、血糖値の変化、といった解析から、腸内細菌と血糖値維持の関連の研究を進める予定である。

代表的論文

1. Sakai K, Iwazaki T, Yamashita E, Nakagawa A, Sakuraba F, Enomoto A, Inagaki M, Takeda S, Observation of unexpected molecular binding activity for Mu phage tail fibre chaperones., J Biochem. 2019 166:529-535.
2. North OI, Sakai K, Yamashita E, Nakagawa A, Iwazaki T, Büttner CR, Takeda S, Davidson AR, Phage tail fibre assembly proteins employ a modular structure to drive the correct folding of diverse fibres., Nat Microbiol. 2019 4:1645-1653.

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

令和元年度研究概要

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。本年度も引き続き、ショウジョウバエを用いた分子遺伝学的手法を駆使して、本グループ因子の機能を精緻に解析した。また、ショウジョウバエ上皮組織のライブイメージングや数理モデルを駆使して、Jbugグループを介したPCP制御機構を明らかにした(投稿準備中)。

林 良敬

名古屋大学
環境医学研究所
内分泌代謝分野
教授

プログルカゴン由来ペプチドと代謝制御異常

令和元年度研究概要

グルカゴン遺伝子・グルカゴン作用の欠損により血中アミノ酸濃度が上昇する。最も血中濃度の高いアミノ酸であるグルタミンの濃度はグルカゴン遺伝子欠損マウスにおいて対照群の2.5倍程度の数値を示すが、グルカゴン投与により速やかに低下する。現在、グルカゴンによる血中アミノ酸濃度の制御メカニズムの解析を進めている。このほかにグルカゴンがニコチンアミドNメチルトランスフェラーゼ(NNMT)の発現を制御していることに着目し、NNMT遺伝子欠損動物の解析を進めている。

代表的論文

1. Hayashi Y, Glutaminostatin: another facet of glucagon as a regulator of plasma amino acid concentration. *J Diabetes Invest* 10:1391-1393, 2019

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

令和元年度研究概要

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出するとともに、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、このPPから β 細胞への分化転換にPdx1とMafAが関与することを明らかにしつつある。またPP細胞の病態生理学的意義を探索する目的で、PPのELISA系の確立やヒト糖尿病検体の検索等を企業や他大学との共同研究ベースで進めている。

代表的論文

1. 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 May 28;66(5):459-468.
2. Takahashi M, Miyatsuka T, Suzuki L, Osonoi S, Himuro M, Miura M, Katahira T, Wakabayashi Y, Fukunaka A, Nishida Y, **Fujitani Y**, Takeda S, Mizukami H, Itakura A, Watada H. [Biphasic changes in \$\beta\$ -cell mass around parturition are accompanied by increased serotonin production.](#) **Sci Rep**. 2020 Mar 18;10(1):4962.

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

生体のエネルギー代謝のエピゲノム制御機構の解明

令和元年度研究概要

肥満や糖尿病との関連が深い脂肪細胞の分化におけるエピゲノム制御機構の研究を進めた。エピゲノム制御に関与する細胞内代謝物の細胞内局在濃度を可能とする新規プローブを立ち上げ、脂肪細胞分化における濃度変化を解明した。さらに、細胞内金属濃度がエピゲノムを書き換え、脂肪細胞分化制御に関与することを明らかにした。これらの成果は、細胞内代謝物濃度がエピゲノムに記憶されて細胞の性質制御に関与するものを示唆するものであり、今後も研究を継続することで代謝エピゲノム制御の分子機構の解明を進めることが期待される。

代表的論文

1. 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

高稲 正勝

群馬大学
未来先端研究機構
内分泌代謝・シグナル学
研究部門
助授

細胞内エネルギー代謝恒常性維持機構の解明

令和元年度研究概要

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

1. [*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, 132(8), 2019
2. [*Takaine M](#)
QUEEN-based Spatiotemporal ATP Imaging in Budding and Fission Yeast
Bio-protocol, 9(15), e3320, 2019