様式Ｃ－１９

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 15 日現在

機関番号：12102
研究種目：基盤研究(C)
研究期間：2009～2011
課題番号：21591123
研究課題名（和文）肥満による脂肪細胞のインスリン抵抗性・中性脂肪合成能低下のメカニズムの解明
研究課題名（英文）Studies on the mechanisms for obesity-induced insulin resistance and dysfunction of adipose tissue.
研究代表者
矢作　直也（YAHAGI NAOYA）
筑波大学・医学医療系・准教授
研究者番号：60420246

研究成果の概要（和文）：独自開発のプロモーター解析手法である in vivo Ad-luc 法を活用して脂肪酸合成酵素(FAS)遺伝子のプロモーター解析を行った結果、肥満動物の脂肪組織では FAS 遺伝子のプロモーター活性が低下しており、肥満・インスリン抵抗性の病態において、FAS 遺伝子の発現が転写レベルで抑制されていることを明らかにすることができた。

研究成果の概要（英文）：We have found that the mRNA expression of fatty acid synthase (FAS) gene in adipose tissues of obese animals is down-regulated at the transcription level using our original “in vivo Ad-luc” assay system.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合　計
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総　計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：代謝学
科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学
キーワード：メタボリックシンドローム

１．研究開始当初の背景

メタボリックシンドロームの病態の根幹をなす、肥満に伴うインスリン抵抗性の本質は、肥満に対するネガティブフィードバック機構であると考えられる。肥満時の肥大化した脂肪細胞にはインスリン抵抗性のひとつの表れとして、脂肪酸合成酵素（FAS）を始めとする中性脂肪合成系遺伝子の発現の低下があることを我々は以前、マイクロアレイ解析等により見出し、報告した。この lipogenic genes の発現低下は脂肪細胞の糖取り込み低下や、さらにはインスリン感受性増進作用を持つ脂肪細胞由来の脂質ホルモンと最近判明した palmitoleate の産生低下などを介してインスリン抵抗性と深く関連しているものと考えられ、肥満の病態における脂肪細胞の重要な特徴のひとつと言える。

２．研究の目的

本研究の目的は、肥満時の脂肪細胞における中性脂肪合成系遺伝子の発現低下のメカニズムを解明することである。

３．研究の方法

中性脂肪合成系遺伝子の代表として、脂肪

酸合成酵素（FAS）遺伝子に着目し、その遺伝子発現制御機構を我々独自開発のプロモーター解析法である in vivo Ad-luc 法にて検討した。

４．研究成果

脂肪組織にアデノウイルスによる FAS プロモータールシフェラーゼレポーター遺伝子の導入を行い、in vivo imaging system（IVIS）によって FAS 遺伝子の in vivo プロモーター解析を行ったところ、肥満動物の脂肪組織では FAS 遺伝子のプロモーター活性が低下しており、FAS 遺伝子の発現が転写レベルで抑制されていることを明らかにすることができた。さらに、FAS 遺伝子のプロモーター領域の各部位を詳細に in vivo Ad-luc 解析ならびに electromobility shift assay により調べることで、FAS 遺伝子のインスリン作用による活性化メカニズム、および肥満・インスリン抵抗性下における抑制のメカニズムを解明することを目指して、現在さらに解析を加えている。

５．主な発表論文等
（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 11 件）
全て査読有

1. Kumadaki S, Karasawa T, Matsuzaka T, Ema M, Nakagawa Y, Nakakuki M, Saito R, Yahagi N, Iwasaki H, Sone H, Takekoshi K, Yatoh S, Kobayashi K, Takahashi A, Suzuki H, Takahashi S, Yamada N, Shimano H: Inhibition of ubiquitin ligase F-box and WD repeat domain-containing 7α (Fbw7α) causes hepatosteatosis through Kruppel-like factor 5 (KLF5)/peroxisome proliferator-activated receptor γ2 (PPARγ2) pathway but not SREBP-1c protein in mice. J Biol Chem 286:40835-46, 2011.
DOI: 10.1074/jbc.M111.235283

2. Saito R, Matsuzaka T, Karasawa T, Sekiya M, Okada N, Igarashi M, Matsumori R, Ishii K, Nakagawa Y, Iwasaki H, Kobayashi K, Yatoh S, Takahashi A, Sone H, Suzuki H, Yahagi N, Yamada N, Shimano H: Macrophage Elovl6 deficiency ameliorates foam cell formation and reduces atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol 31:1973-9, 2011.
DOI: 10.1161/ATVBAHA.110.221663

3. Amemiya-Kudo M, Oka J, Takeuchi Y, Okazaki H, Yamamoto T, Yahagi N, Matsuzaka K, Okazaki S, Osuga J, Yamada N, Murase T, Shimano H: Suppression of the pancreatic duodenal homeodomain transcription factor-1 (Pdx-1) promoter by sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c). J Biol Chem 286:27902-14, 2011.
DOI: 10.1074/jbc.M110.186221

4. Karasawa T, Takahashi A, Saito R, Sekiya M, Igarashi M, Iwasaki H, Miyahara S, Koyasu S, Nakagawa Y, Ishii K, Matsuzaka T, Kobayashi K, Yahagi N, Takekoshi K, Sone H, Yatoh S, Suzuki H, Yamada N, Shimano H: Sterol regulatory element-binding protein-1 determines plasma remnant lipoproteins and accelerates atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol 31:1788-95, 2011.
DOI: 10.1161/ATVBAHA.110.219659

5. Ohta K, Sekiya M, Uozaki H, Igarashi M, Takase S, Kumagai M, Takanashi M, Takeuchi Y, Izumida Y, Kubota M, Nishi M, Okazaki H, Iizuka Y, Yahagi N, Yagyu H, Fukayama M, Kadowaki T, Ohashi K, Ishibashi S, Osuga JI: Abrogation of neutral cholesterol ester hydrolytic activity causes adrenal enlargement. Biochem Biophys Res Commun 404:254-60, 2010.
DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.11.103

6. Yamamoto T, Watanabe K, Inoue N, Nakagawa Y, Ishigaki N, Matsuzaka T, Takeuchi Y, Kobayashi K, Yatoh S, Takahashi A, Suzuki H, Yahagi N, Gotoda T, Yamada N, Shimano H: Protein kinase Cbeta mediates hepatic induction of sterol-regulatory element binding protein-1c by insulin. J Lipid Res 51:1859-70, 2010.
DOI: 10.1194/jlr.M004234

7. Takeuchi Y, Yahagi N, Izumida Y, Nishi M, Kubota M, Teraoka Y, Yamamoto T, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Sekiya M, Iizuka Y, Ohashi K, Osuga JI, Gotoda T, Ishibashi S, Itaka K, Kataoka K, Nagai R, Yamada N, Kadowaki T, Shimano H: Polyunsaturated fatty acids selectively suppress sterol regulatory element-binding protein-1 through proteolytic processing

and autoloop regulatory circuit. J Biol Chem 285:11681-91, 2010.
DOI: 10.1074/jbc.M109.096107

8. Sekiya M, Osuga J, Nagashima S, Ohshiro T, Igarashi M, Okazaki H, Takahashi M, Tazoe F, Wada T, Ohta K, Takanashi M, Kumagai M, Nishi M, Takase S, Yahagi N, Yagyu H, Ohashi K, Nagai R, Kadowaki T, Furukawa Y, Ishibashi S: Ablation of neutral cholesterol ester hydrolase 1 accelerates atherosclerosis. Cell Metab 10:219-28, 2009.
DOI: 10.1016/j.cmet.2009.08.004

9. Sekiya M, Yahagi N, Tamura Y, Okazaki H, Igarashi M, Ohta K, Takanashi M, Kumagai M, Takase S, Nishi M, Takeuchi Y, Izumida Y, Kubota M, Ohashi K, Iizuka Y, Yagyu H, Gotoda T, Nagai R, Shimano H, Yamada N, Kadowaki T, Ishibashi S, Osuga JI: Hormone-sensitive lipase deficiency suppresses insulin secretion from pancreatic islets of Lep(ob)(/)(ob) mice. Biochem Biophys Res Commun 387:511-5, 2009.
DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.07.078

10. Nakanishi N, Nakagawa Y, Tokushige N, Aoki N, Matsuzaka T, Ishii K, Yahagi N, Kobayashi K, Yatoh S, Takahashi A, Suzuki H, Urayama O, Yamada N, Shimano H: The up-regulation of microRNA-335 is associated with lipid metabolism in liver and white adipose tissue of genetically obese mice. Biochem Biophys Res Commun 385:492-6, 2009.
DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.05.058

11. Iwasaki Y, Iwasaki H, Yatoh S, Ishikawa M, Kato T, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Yahagi N, Kobayashi K, Takahashi A, Suzuki H, Yamada N, Shimano H: Nuclear SREBP-1a causes loss of pancreatic beta-cells and impaired insulin secretion. Biochem Biophys Res Commun 378:545-50, 2009.
DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.11.105

〔学会発表〕（計 22 件）

1. 武内謙憲、矢作直也、西真貴子、宝田亜矢子、升田紫、久保田みどり、泉田欣彦、山本隆史、石井清朗、松坂賢、中川嘉、位高啓史、片岡一則、永井良三、山田信博、門脇孝、島野仁：肝臓の脂質合成系における KLF15 の関与、第 34 回日本分子生物学会年会、2011 年 12 月 15 日・16 日、神奈川県横浜市

2. 泉田欣彦、矢作直也、武内謙憲、西真貴子、宝田亜矢子、升田紫、久保田みどり、新島旭、山田哲也、片桐秀樹、岡芳知、山田信博、島野仁、門脇孝：Hepato-vagal nerve pathway switches mobilizing energy sources from carbohydrates to lipids during fasting、第 34 回日本分子生物学会年会、2011 年 12 月 14 日、神奈川県横浜市

3. 久保田みどり、矢作直也、武内謙憲、井上訓之、三上素樹、石井清朗、松坂賢、中川嘉、升田紫、西真貴子、泉田欣彦、飯塚陽子、山田信博、島野仁、門脇孝：$p21^{WAF1/CIP1}$ is a molecular link between obesity and insulin resistance、第 34 回日本分子生物学会年会、2011 年 12 月 14 日、神奈川県横浜市

4. 西真貴子、矢作直也、武内謙憲、宝田亜矢子、松坂賢、石井清朗、中川嘉、升田紫、久保田みどり、泉田欣彦、飯塚陽子、山田信博、島野仁、門脇孝：Fatty acid synthase 遺伝子の脂肪組織での in vivo プロモーター解析、第 34 回日本分子生物学会年会、2011 年 12 月 15 日、16 日、神奈川県横浜市

5. 矢作直也：肥満・メタボリックシンドロームの病態解明のための中性脂肪合成系の転写調節機構の研究（招待講演）、第 26 回日本糖尿病合併症学会、2011 年 10 月 15 日、埼玉県大宮市

6. 泉田欣彦、矢作直也、武内謙憲、山田哲也、西真貴子、升田紫、久保田みどり、熊谷真義、太田啓介、高梨幹生、高瀬暁、五十嵐正樹、関谷元博、飯塚陽子、大橋健、大須賀淳一、影山晴秋、塩田清二、位高啓史、片岡一則、新島旭、片桐秀樹、岡芳知、山田信博、島野仁、門脇孝：飢餓における自律神経を介した肝・脂肪代謝制御の解明、第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会、2011 年 5 月 19-21 日、北海道札幌市

7. 久保田みどり、矢作直也、武内謙憲、松坂賢、中川嘉、西真貴子、泉田欣彦、飯塚陽子、大橋健、山田信博、島野仁、門脇孝：脂肪細胞のインスリン抵抗性における p21 WAF1/CIP1 の関与の分子機構、第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会、2011 年 5 月 19-21 日、北海道札幌市

8. 西真貴子、矢作直也、武内謙憲、泉田欣彦、宝田亜矢子、松坂賢、中川 嘉、久保田みどり、升田紫、熊谷真義、太田啓介、高梨幹生、高瀬暁、五十嵐正樹、関谷元博、山本

隆史、飯塚陽子、大橋健、大須賀淳一、後藤田貴也、山田信博、島野仁、門脇孝：脂肪組織におけるアデノウィルスを用いた in vivo プロモーター(in vivo Ad-luc)解析手法による FAS(fatty acid synthase)のプロモーター解析、第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会、2011 年 5 月 19-21 日、北海道札幌市

9. 升田紫、矢作直也、太田啓介、熊谷真義、宝田亜矢子、武内謙憲、西真貴子、久保田みどり、高梨幹生、高瀬暁、泉田欣彦、飯塚陽子、門脇孝：指先採血で測定可能な HbA1c 測定機器を用いた、糖尿病早期発見の取り組み、第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会、2011 年 5 月 19-21 日、北海道札幌市

10. 飯塚陽子、大須賀淳一、喬荊、武内謙憲、高瀬暁、高梨幹生、西真貴子、久保田みどり、升田紫、熊谷真義、太田啓介、山本隆史、泉田欣彦、矢作直也、大橋健、島野仁、石橋俊、藤田敏郎、山田信博、後藤田貴也、門脇孝：SHR のメタボリックシンドローム原因候補遺伝子(KAT-1)の欠損マウスを用いた生理的機能の解明、第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会、2011 年 5 月 19-21 日、北海道札幌市

11. 矢作直也、武内謙憲：転写調節因子同定(C2T 解析)のための網羅的転写因子発現プラスミドライブラリ TFEL の構築、BMB2010(第 33 回日本分子生物学会・第 83 回生化学会合同年会)、2010 年 12 月 8 日、兵庫県神戸市

12. 泉田欣彦、矢作直也、武内謙憲、山田哲也、西真貴子、五十嵐正樹、高瀬暁、関谷元博、飯塚陽子、影山晴秋、塩田清二、位高啓史、片岡一則、新島旭、片桐秀樹、岡芳知、大須賀淳一、山田信博、島野仁、大橋健、門脇孝：飢餓での自律神経を介した肝・脂肪組織代謝制御の解明、BMB2010(第 33 回日本分子生物学会年会･第 83 回日本生化学会大会)、2010 年 12 月 7-10 日、兵庫県神戸市

13. 武内謙憲、矢作直也、泉田欣彦、西真貴子、久保田みどり、山本隆史、松坂賢、中川嘉、関谷元博、位高啓史、片岡一則、永井良三、大橋健、大須賀淳一、山田信博、門脇孝、島野仁：in vivo での SREBP-1c 遺伝子の転写活性調節機構の解析、BMB2010(第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会)、2010 年 12 月 7-10 日、兵庫県神戸市

14. 西真貴子、矢作直也、武内謙憲、泉田欣彦、松坂賢、山本隆史、後藤田貴也、飯塚陽子、大須賀淳一、山田信博、島野仁、大橋健、門脇孝：脂肪組織での in vivo プロモーター解析手法の確立、BMB2010(第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会)、2010 年 12 月 7-10 日、兵庫県神戸市

15. 矢作直也：脂質と遺伝子発現調節(招待講演)、第 25 回日本糖尿病合併症学会、2010 年 10 月 23 日、滋賀県大津市

16. 矢作直也：IVIS を用いた in vivo プロモーター解析手法と網羅的転写因子発現ライブラリによる栄養代謝の転写調節カスケードの探索(招待講演)、第 28 回内分泌代謝サマーセミナー、2010 年 7 月 10 日、長崎県佐世保市

17. 西真貴子、矢作直也、武内謙憲、泉田欣彦、松坂賢、山本隆史、後藤田貴也、飯塚陽子、大須賀淳一、山田信博、島野仁、大橋健、門脇孝：In vivo promoter analysis of leptin gene to elucidate the mechanism of sensing fat mass、第 42 回日本動脈硬化学会総会学術集会、2010 年 7 月 15-16 日、岐阜県岐阜市

18. 久保田みどり、矢作直也、武内謙憲、井上訓之、三上素樹、松坂賢、中川嘉、泉田欣彦、飯塚陽子、大橋健、山田信博、島野仁、門脇孝：p21WAF1/CIP1 is a molecular link between obesity and insulin resistance、第 42 回日本動脈硬化学会総会学術集会､2010 年 7 月 15-16 日、岐阜県岐阜市

19. 泉田欣彦、矢作直也、武内謙憲、山田哲也、位高啓史、片岡一則、片桐秀樹、岡芳知, 大須賀淳一、山田信博、島野仁、大橋健、門脇孝：Hepato-vagal nerve pathway switches energy source from carbohydrate to fat during fasting、第 42 回日本動脈硬化学会総会学術集会、2010 年 7 月 15-16 日、岐阜県岐阜市

20. 泉田欣彦、矢作直也、武内謙憲、西真貴子、山田哲也、久保田みどり、熊谷真義、太田啓介、高梨幹生、高瀬暁、五十嵐正樹、関谷元博、飯塚陽子、影山晴秋、塩田清二、位高啓史、片岡一則、新島旭、片桐秀樹、岡芳知、大須賀淳一、山田信博、島野仁、大橋健、門脇孝：飢餓での自律神経を介した肝・脂肪代謝制御の解明 － Hepato-vagal pathway modulates carbohydrate-lipid balancing －、第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会、2010 年 5 月 27-30 日、岡山県岡山市

21. 西真貴子、矢作直也、武内謙憲、泉田欣彦、松坂賢、中川嘉、久保田みどり、熊谷真義、太田啓介、高梨幹生、高瀬暁、五十嵐正樹、関谷元博、山本隆史、飯塚陽子、後藤田貴也、大須賀淳一、山田信博、島野仁、大橋健、門脇孝：肥満関連遺伝子のルシフェラーゼレポーター遺伝子アデノウィルスを用い

た in vivo プロモーター解析、第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会、2010 年 5 月 27-30 日、岡山県岡山市

22. 矢作直也：Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor, p21WAF1/CIP1, is Involved in Adipocyte Differentiation and Hypertrophy, Linking to Obesity, and Insulin Resistance. 第 41 回日本動脈硬化学会、2009 年 7 月 17 日～18 日、山口県下関市

〔図書〕（計 3 件）

①矢作直也、株式会社 SCICUS、糖尿病診断アクセス革命、2010、136

②矢作直也・大西由希子、株式会社 SCICUS、糖尿病 NICEBOOK、2010、152

③矢作直也・大西由希子、株式会社 SCICUS、文系 MR のための糖尿病自己学習ノート、2009、124

〔その他〕
ホームページ等
http://metab.umin.ne.jp/

６．研究組織
(1)研究代表者
矢作　直也（YAHAGI NAOYA）
筑波大学・医学医療系・准教授
研究者番号：60420246