

## 多価不飽和脂肪酸の作用ドメイン解明から新規高トリグリセリド血症治療薬へ

著者	矢作 直也
発行年	2018
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2241/00158909">http://hdl.handle.net/2241/00158909</a>

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K13040

研究課題名(和文)多価不飽和脂肪酸の作用ドメイン解明から新規高トリグリセリド血症治療薬へ

研究課題名(英文)Elucidation of the action domain of polyunsaturated fatty acids to develop new drug for hypertriglyceridemia

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：転写因子SREBP-1は肝臓などで中性脂肪合成系の諸酵素の発現量制御を司っている転写調節因子である。多価不飽和脂肪酸は肝臓での中性脂肪合成を抑制することが古くから知られてきたが、研究代表者らは、多価不飽和脂肪酸(PUFA)のこの作用が、SREBP-1に対する抑制効果を介したものであることを発見した。本研究では、化合物ライブラリーのスクリーニングにより、PUFAと同様の機序で特異的に作用しPUFAよりもさらに強いSREBP-1抑制活性を持つ新規化合物を見つけ出すため、ハイスループットスクリーニングに必要な安定細胞株の樹立とそれを用いたアッセイ系の確立に成功した。

研究成果の概要(英文)：The transcription factor SREBP-1 is a transcriptional regulatory factor that regulates the expression levels of various enzymes involved in triglyceride synthesis in the liver. Polyunsaturated fatty acids (PUFAs) have long been known to suppress triglyceride synthesis in the liver, and we have found that this action of PUFAs is mediated through inhibition of SREBP-1. In this study, in order to screen compounds libraries to get novel compounds that specifically act on the same mechanism as PUFAs and have a stronger SREBP-1 inhibitory effect than PUFA, stable cell line necessary for high-throughput screening was established as an assay system to be used.

研究分野：代謝学、栄養学、分子生物学

キーワード：多価不飽和脂肪酸 栄養 転写

## 1. 研究開始当初の背景

転写因子 SREBP-1 (sterol regulatory element-binding protein-1)は肝臓などで中性脂肪合成系の諸酵素の発現量制御を司っている転写調節因子である。多価不飽和脂肪酸は肝臓での中性脂肪合成を抑制することが古くから知られてきたが、研究代表者らは、多価不飽和脂肪酸(PUFA)のこの作用が、SREBP-1 に対する抑制効果を介したものであることを発見し、報告してきた(Yahagi N, et al. *J Biol Chem* 274:35840, 1999)。

SREBP-1 は小胞体膜結合型の前駆体型蛋白としてまず作られ、その後、ゴルジ体に輸送されて、そこで2種類の切断酵素(蛋白分解酵素)の働きにより切断され、切り離されたN末端側が核内に運ばれて、転写因子としての働きを持つようになるが、我々は、この切断活性化プロセスが PUFA により抑制されることを明らかにした (Takeuchi Y, Yahagi N, et al. *J Biol Chem* 285:11681, 2010)。

また、その過程で、SREBP-1 の切断活性化を生体内発光イメージング法で検出するアッセイ系を確立した。さらに、PUFA の代謝酵素の1つである Elovl5 が PUFA-SREBP-1 ネガティブフィードバック経路において重要な役割を担っていることを報告した(Shikama Y, Yahagi N, et al. *Biochem Biophys Res Commun* 465:857, 2015)。

さらに最近、前述の我々独自の生体内発光イメージング法を活用し、SREBP-1 分子上の多価不飽和脂肪酸作用ドメイン(PUFA 作用ドメイン)の発見に成功した。

PUFAはエイコサペンタエン酸が高脂血症治療薬として広く日常臨床の場で使われていて、JELIS などの大規模臨床試験においても優れた高トリグリセリド血症治療効果および抗動脈効果作用が確かめられているが、内服のしにくさなど欠点もある。

本研究により、PUFA と同じ作用機序で、より強力に作用する新規化合物を見出すことができれば、安全性の高い新規の高トリグリセリド血症治療薬の創薬へと繋がる可能性が開かれる。

## 2. 研究の目的

上述の成果に基づき、化合物ライブラリーのスクリーニングにより、新たに見つけた SREBP-1 上の PUFA 作用ドメインに相互作用する新規化合物の探索を行うことで、PUFA と同様の機序で特異的に作用し PUFA よりもさらに強い SREBP-1 抑制活性を持つ新規化合物を見つけ出す。

このことを通じて、PUFA の作用機序に chemical biology から迫るとともに、最終的には新規の高トリグリセリド血症治療薬の創薬を目指す。

## 3. 研究の方法

我々が独自に構築した SREBP-1 切断活性のアッセイ系 (GAL4-VP16-SREBP-1+UAS-Luc)を用い、それを改変して、HTS の系に移行させる。

そのアッセイ系により、東京大学創薬機構から配布される化合物ライブラリーのスクリーニングを実施する。

## 4. 研究成果

まず、従来のアッセイ系を HTS の系に移行させるため、アッセイ系プラスミドの改変を行った。具体的には、それらのアッセイプラスミドシステムを1つのベクターにタンデムに繋げて載せて、1つのプラスミドに再構成した。

次に、そのプラスミドを HepG2 細胞にトランスフェクションし、安定的に Luc を発現する細胞株を抗生剤によるセレクション下で単離した。

その結果、アッセイ系プラスミドがゲノムに挿入された、安定発現 HepG2 細胞株を樹立することに成功した。

今後、この細胞株を活用して、化合物ライブラリーのスクリーニングを行っていく。

## 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 17 件)

1. Piao X, Yahagi N, Takeuchi Y, Aita Y, Murayama Y, Sawada Y, Shikama A, Masuda Y, Nishi-Tatsumi M, Kubota M, Izumida Y, Sekiya M, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Sugano Y, Iwasaki H, Kobayashi K, Yatoh S, Suzuki H, Yagyu H, Kawakami Y, Shimano H:

A candidate functional SNP rs7074440 in TCF7L2 alters gene expression through C-FOS in hepatocytes.

FEBS Lett 592:422-433, 2018. 査読有り

DOI: 10.1002/1873-3468.12975

2. Takei K, Han SI, Murayama Y, Satoh A, Oikawa F, Ohno H, Osaki Y, Matsuzaka T, Sekiya M, Iwasaki H, Yatoh S, Yahagi N, Suzuki H, Yamada N, Nakagawa Y, Shimano H: The selective PPAR $\alpha$  modulator K-877 efficiently activates the PPAR $\alpha$  pathway and improves lipid metabolism in mice.

J Diabetes Investig 8:446-452, 2017. 査読有り

DOI: 10.1111/jdi.12621

3. Takanashi M, Taira Y, Okazaki S, Takase S, Kimura T, Li CC, Xu PF, Noda A, Sakata I, Kumagai H, Ikeda Y, Iizuka Y, Yahagi N, Shimano H, Osuga JI, Ishibashi S, Kadowaki T, Okazaki H:

Role of Hormone-sensitive Lipase in Leptin-Promoted Fat Loss and Glucose Lowering.

J Atheroscler Thromb 24:1105-1116, 2017. 査読有り

DOI: 10.5551/jat.39552

4. Zhao H, Matsuzaka T, Nakano Y, Motomura K, Tang N, Yokoo T, Okajima Y, Han SI, Takeuchi Y, Aita Y, Iwasaki H, Yatoh S, Suzuki H, Sekiya M, Yahagi N, Nakagawa Y, Sone H, Yamada N, Shimano H:

Elovl6 Deficiency Improves Glycemic Control in Diabetic db/db Mice by Expanding  $\beta$ -Cell Mass and Increasing Insulin Secretory Capacity.

Diabetes 66:1833-1846, 2017. 査読有り

DOI: 10.2337/db16-1277

5. Sawada Y, Izumida Y, Takeuchi Y, Aita Y, Wada N, Li E, Murayama Y, Piao X, Shikama A, Masuda Y, Nishi-Tatsumi M, Kubota M, Sekiya M, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Sugano Y, Iwasaki H, Kobayashi K, Yatoh S, Suzuki H, Yagyū H, Kawakami Y, Kadowaki T, Shimano H, Yahagi N:

Effect of sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT2) inhibition on weight loss is partly mediated by liver-brain-adipose neurocircuitry.

Biochem Biophys Res Commun 493:40-45, 2017. 査読有り

DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.09.081

6. Nishi-Tatsumi M, Yahagi N, Takeuchi Y, Toya N, Takarada A, Murayama Y, Aita Y, Sawada Y, Piao X, Oya Y, Shikama A, Masuda Y, Kubota M, Izumida Y, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Sekiya M, Iizuka Y, Kawakami Y, Kadowaki T, Yamada N, Shimano H:

A key role of nuclear factor Y in the refeeding response of fatty acid synthase in adipocytes.

FEBS Lett 591:965-978, 2017. 査読有り

DOI: 10.1002/1873-3468.12620

7. Yahagi N:

Hepatic Control of Energy Metabolism via the Autonomic Nervous System.

J Atheroscler Thromb. 24:14-18, 2017. 査読有り

DOI: 10.5551/jat.RV16002

8. 矢作直也 : 中性脂肪合成経路の転写調節メカニズムについての新知見

生化学 (Journal of Japanese Biochemical Society) 89(3):467-470, 2017. 査読なし

DOI:10.14952/SEIKAGAKU.2017.890467

9. 矢作直也 : 脂肪酸代謝における肝臓の役

割

The Lipid 28(2):129-138, 2017. 査読なし

10. 升田紫、矢作直也 : 糖尿病における脂質異常症治療の現状と展望

Mebio 34(5): 76-86, 2017. 査読なし

11. Nakagawa Y, Satoh A, Tezuka H, Han SI, Takei K, Iwasaki H, Yatoh S, Yahagi N, Suzuki H, Iwasaki Y, Sone H, Matsuzaka T, Yamada N, Shimano H:

CREB3L3 controls fatty acid oxidation and ketogenesis in synergy with PPAR $\alpha$ .

Sci Rep 6:39182, 2016. 査読有り

DOI: 10.1038/srep39182

12. Kikuchi T, Orihara K, Oikawa F, Han SI, Kuba M, Okuda K, Satoh A, Osaki Y, Takeuchi Y, Aita Y, Matsuzaka T, Iwasaki H, Yatoh S, Sekiya M, Yahagi N, Suzuki H, Sone H, Nakagawa Y, Yamada N, Shimano H:

Intestinal CREBH overexpression prevents high-cholesterol diet-induced hypercholesterolemia by reducing Npc111 expression.

Mol Metab 5:1092-1102, 2016. 査読有り

DOI: 10.1016/j.molmet.2016.09.004

13. Takeuchi Y, Yahagi N, Aita Y, Murayama Y, Sawada Y, Piao X, Toya N, Oya Y, Shikama A, Takarada A, Masuda Y, Nishi M, Kubota M, Izumida Y, Yamamoto T, Sekiya M, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Urayama O, Kawakami Y, Iizuka Y, Gotoda T, Itaka K, Kataoka K, Nagai R, Kadowaki T, Yamada N, Lu Y, Jain MK, Shimano H:

KLF15 Enables Rapid Switching between Lipogenesis and Gluconeogenesis during Fasting.

Cell Rep. 16:2373-86, 2016. 査読有り

DOI: 10.1016/j.celrep.2016.07.069

14. Nakagawa Y, Oikawa F, Mizuno S, Ohno H, Yagishita Y, Satoh A, Osaki Y, Takei K, Kikuchi T, Han SI, Matsuzaka T, Iwasaki H, Kobayashi K, Yatoh S, Yahagi N, Isaka M, Suzuki H, Sone H, Takahashi S, Yamada N, Shimano H:

Hyperlipidemi and hepatitis in liver-specific CREB3L3 knockout mice generated using a one-step CRISPR/Cas9 system.

Sci Rep. 6:27857, 2016. 査読有り

DOI: 10.1038/srep27857

15. Suzuki-Kemuriyama N, Matsuzaka T, Kuba M, Ohno H, Han SI, Takeuchi Y, Isaka M, Kobayashi K, Iwasaki H, Yatoh S, Suzuki H, Miyajima K, Nakae D, Yahagi N, Nakagawa Y, Sone H, Yamada N, Shimano H:

Different Effects of Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic Acids on Atherogenic High-Fat Diet-Induced Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Mice.

PloS One. 11:e0157580, 2016. 査読有り  
DOI: 10.1371/journal.pone.0157580

16. 矢作直也: 脂質異常と動脈硬化症  
臨床化学 45(1):5-11, 2016. 査読なし

17. 矢作直也、村山友樹: 特集<症例から学ぶ>内科疾患の診断・治療のピットフォール  
脂質代謝異常症  
内科 117(4):1036-1043, 2016. 査読なし

[学会発表] (計 19 件)

1. 矢作直也: シンポジウム 4SY03 「食の代謝・進化から迫る生命の戦略」: エネルギー欠乏への対応戦略  
日本農芸化学会 2018 年度大会 (2018 年 3 月 16~18 日、名城大学(愛知県名古屋市))

2. 沢田義一、泉田欣彦、武内謙憲、會田雄一、和田亘弘、李恩旭、村山友樹、朴賢英、志鎌明人、升田紫、西真貴子、久保田みどり、関谷元博、松坂賢、中川嘉、島野仁、矢作直也: Effect of sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT2) inhibition on weight loss is partly mediated by liver-brain-adipose neurocircuitry.  
第 40 回日本分子生物学会年会・第 90 回日本生化学会大会 (ConBio2017) (2017 年 12 月 6~9 日、神戸国際会議場(兵庫県神戸市))

3. 武内謙憲、矢作直也、會田雄一、村山友樹、朴賢英、沢田義一、志鎌明人、升田紫、泉田欣彦、関谷元博、松坂賢、中川嘉、川上康、島野仁: KLF15 は絶食時に中性脂肪合成から糖新生への速やかな切り替えを可能にする  
第 39 回日本臨床栄養学会総会・第 38 回日本臨床栄養協会総会 (2017 年 10 月 13~15 日、幕張メッセ(千葉県幕張市))

4. 矢作直也: ワークショップ 4 「栄養シグナルと生体応答」: 「栄養シグナル」による遺伝子発現調節  
第 39 回日本臨床栄養学会総会・第 38 回日本臨床栄養協会総会 (2017 年 10 月 13~15 日、幕張メッセ(千葉県幕張市))

5. 武内謙憲、矢作直也、會田雄一、村山友樹、沢田義一、朴賢英、志鎌明人、升田紫、泉田欣彦、関谷元博、松坂賢、中川嘉、川上康、山田信博、島野仁: KLF15 は絶食時において脂質代謝と糖代謝を抑制する重要な因子である  
(2017 年 7 月 6~7 日、グランドプリンスホテル広島(広島県広島市))

6. 矢作直也: 明日へのシンポジウム 2 「脂質異常症診療の update」脂肪酸分画を診療に生かす  
第 49 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 (2017 年 7 月 6~7 日、グランドプリンスホテル広島(広島県広島市))

7. 矢作直也: 中性脂肪合成を制御する転写複合体の解明  
第 49 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 (2017 年 7 月 6~7 日、グランドプリンスホテル広島(広島県広島市))

8. 朴賢英、矢作直也、武内謙憲、會田雄一、村山友樹、沢田義一、志鎌明人、升田紫、泉田欣彦、関谷元博、松坂賢、中川嘉、川上康、島野仁: 2 型糖尿病に関連した TCF7L2 遺伝子の一塩基多型の機能分析  
第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2017 年 5 月 18~20 日、名古屋国際会議場(愛知県名古屋市))

9. 升田紫、矢作直也、武内謙憲、沢田義一、朴賢英、會田雄一、戸谷直樹、大屋友華里、志鎌明人、西真貴子、泉田欣彦、飯塚陽子、位高啓史、片岡一則、島野仁、門脇孝: 多価不飽和脂肪酸 (PUFA) による SREBP-1 特異的な抑制機序の解明  
第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2017 年 5 月 18~20 日、名古屋国際会議場(愛知県名古屋市))

10. 泉田欣彦、和田亘弘、矢作直也、武内謙憲、李恩旭、升田紫、沢田義一、戸谷直樹、朴賢英、會田雄一、志鎌明人、飯塚陽子、島野仁、門脇孝: 脂肪酸エネルギー基質動員の優先性を制御する分子基盤の探求  
第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2017 年 5 月 18~20 日、名古屋国際会議場(愛知県名古屋市))

11. 武内謙憲、矢作直也、會田雄一、村山友樹、沢田義一、朴賢英、志鎌明人、升田紫、泉田欣彦、関谷元博、松坂賢、中川嘉、川上康、山田信博、島野仁: KLF15 は絶食時において脂質代謝と糖代謝を制御する重要な因子である  
第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2017 年 5 月 18~20 日、名古屋国際会議場(愛知県名古屋市))

12. 武内謙憲、矢作直也、會田雄一、村山友樹、沢田義一、朴賢英、志鎌明人、関谷元博、松坂賢、中川嘉、川上康、島野仁: KLF15 は絶食時において脂質代謝と糖代謝を制御する重要な因子である  
第 54 回日本臨床分子医学会学術集会 (2017 年 4 月 14~15 日、東京国際フォーラム(東京都))

13. 武内謙憲、矢作直也、會田雄一、村山友樹、沢田義一、朴賢英、戸谷直樹、大屋友華里、志鎌明人、西真貴子、升田紫、久保田みどり、泉田欣彦、関谷元博、松坂賢、中川嘉、川上康、山田信博、島野仁：KLF15 は絶食時において脂質代謝と糖代謝を制御する重要な因子である

第 39 回日本分子生物学会年会 (2016 年 11 月 30~12 月 2 日、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市))

14. 矢作直也：大血管障害予防に向けた LDL-C 管理目標値

第 31 回日本糖尿病合併症学会(2016 年 10 月 7 日~8 日、仙台国際センター(宮城県仙台市))

15. Piao X, Yahagi N, Takeuchi Y, Aita Y, Murayama Y, Sawada Y, Toya N, Oya Y, Shikama A, Takarada A, Masuda Y, Nishi M, Kubota M, Izumida Y, Sekiya M, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Kawakami Y, Yamada N, Shimano H: Functional analysis of TCF7L2 SNPs associated with type 2 diabetes.

Tsukuba Global Science Week 2016 (The 5th HUMAN BIOLOGY SYMPOSIUM) (2016 年 9 月 17~19 日、つくば国際会議場(茨城県つくば市))

16. 志鎌明人、武内謙憲、村山友樹、和田亘弘、李恩旭、朴賢英、沢田義一、會田雄一、戸谷直樹、升田紫、西真貴子、久保田みどり、泉田欣彦、松坂賢、中川嘉、岩崎仁、小林和人、矢藤繁、鈴木浩明、野牛宏晃、川上康、山田信博、門脇孝、島野仁、矢作直也：apoE 遺伝子プロモーターの TFEL scan 解析

第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2016 年 5 月 19~21 日、国立京都国際会館(京都府京都市))

17. 泉田欣彦、和田亘弘、矢作直也、武内謙憲、李恩旭、升田紫、沢田義一、戸谷直樹、朴賢英、會田雄一、志鎌明人、飯塚陽子、島野仁、門脇孝：新規エネルギー・センサーによる脂肪酸系エネルギー動員機序の探求

第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2016 年 5 月 19~21 日、国立京都国際会館(京都府京都市))

18. 升田紫、矢作直也、武内謙憲、會田雄一、朴賢英、村山友樹、和田亘弘、李恩旭、沢田義一、戸谷直樹、志鎌明人、西真貴子、久保田みどり、泉田欣彦、中村健一郎、田村祐子、岸暁子、上村夕香理、益子友恵、水野由子、前田士郎、新井洋由、門脇孝、山崎力、徳渕慎一郎：ゲノム多型解析に基づく 2 型糖尿病リスク分析・予防サービスによる健康指導効果の検証

第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2016

年 5 月 19~21 日、国立京都国際会館(京都府京都市))

19. 矢作直也：シンポジウム 9「栄養・食品と動脈硬化」 n-3 系多価不飽和脂肪酸と脂質異常症・動脈硬化

第 48 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 (2016 年 7 月 14~15 日、京王プラザホテル(東京都))

〔図書〕(計 1 件)

1. 矢作直也(編集)

実験医学増刊号「遺伝子制御の新たな主役・栄養シグナル」

羊土社、2016 (231 ページ)

〔その他〕

ホームページ等

<http://nyahagi.wixsite.com/ngrg>

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