

平成22年 5月12日現在

研究種目：若手研究(A)
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19689019
 研究課題名（和文） 生活習慣病改善因子 TFE3 による生活習慣病治療への分子基盤の確立
 研究課題名（英文） The functional analysis of TFE3 to the new therapy for metabolic syndrome
 研究代表者
 中川 嘉 (NAKAGAWA YOSHIMI)
 筑波大学・大学院人間総合科学研究科・講師
 研究者番号：80361351

研究成果の概要（和文）：生活習慣病の改善に機能する TFE3 について、様々な組織での特有の機能をもつかを解析した。脂肪組織においては脂肪分化抑制、熱産生増加、筋肉ではグリコーゲン合成の促進、腎臓ではインスリンシグナルの増加を示した。TFE3 はエネルギー代謝の責任臓器において、様々な機能を有し生体の恒常性に機能することが明らかとなった。今後は生活習慣病病態改善に対する効果的な TFE3 の機能増強について検討が必要である。

研究成果の概要（英文）：We analyzed what TFE3 functioned in various tissues. TFE3 suppressed adipogenesis and increased thermogenesis in adipose tissue, induced glycogen synthesis in muscle, and upregulated insulin signaling in kidney. We proposed that TFE3 functioned in energy homeostasis in various tissues. Next we will research the therapeutic methods to increase the ability of TFE3.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	11,000,000	3,300,000	14,300,000
2008年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
2009年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
年度			
年度			
総計	19,600,000	5,880,000	25,480,000

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：生活習慣病、遺伝子発現制御、転写因子、エネルギー代謝

1. 研究開始当初の背景

欧米先進各国では、脂肪分摂取の増大などから摂取カロリー過剰と運動不足などにより消費カロリーの低下からエネルギー蓄積過剰の状態である肥満とそれに基づくメタボリックシンドロームの患者の増加が深刻な社会問題になっている。日本においても、

近年、生活習慣の欧米化が進み、いわゆる生活習慣病と呼ばれる糖尿病、高血圧、高脂血症、肥満、動脈硬化症などの患者が急速に増加し、さらにそれら疾患が一個人に集積するメタボリックシンドロームへと発展し、最終的には虚血性心疾患、脳卒中などの動脈硬化性疾患にまで進展する。そのため、肥満・メタボリックシンドロームの原因の解明とそ

れに基づく根本的な予防法や治療法の確立がきわめて重要である。生活習慣病の病態は特定の遺伝子変異というよりはエネルギー代謝遺伝子などの関連遺伝子機能の調節ないしは発現異常として捉えるべきであり、糖脂質代謝におけるエネルギー過剰あるいは消費不足に対する病的破綻状態という視点からエネルギー代謝制御機構の研究を展開してきた。生活習慣病/メタボリックシンドロームの病態の解明と治療法の開発においては、遺伝子発現調節の失調という観点から研究を推進することが重要と考える。

最近、我々は生活習慣病に関連する転写因子TFE3を見出した。TFE3は肝臓でのインスリン感受性を制御し糖尿病の発症に大きく関与するIRS-2の発現を上昇させることでインスリンの感受性を増強し、糖尿病病態の改善を引き起こす。生活習慣病の治療という点でTFE3は重要な因子であることが明らかとなった¹。しかし、肝臓以外の他のエネルギー代謝責任臓器でのTFE3の機能は今だ不明である。

2. 研究の目的

本研究では、肝臓において生活習慣病改善能を有するTFE3が他の各エネルギー代謝責任臓器における機能を明らかにし、個体全体におけるTFE3の機能解析へ発展させる。TFE3のどの機能をどこで増強させることが生活習慣病治療を効果的に行える分子メカニズムを明らかにする。

3. 研究の方法

骨格筋、脂肪組織といったエネルギー代謝調節の責任臓器におけるTFE3の機能を解析するため、細胞レベルからマウス個体レベルまでトータルに解析することで生体に対する機能を検討した。

(1)脂肪組織

① in vitro 解析

TFE3の直接的な脂肪細胞の機能を解析するため、脂肪細胞モデル細胞である3T3-L1細胞を用いた。遺伝子導入するため、TFE3およびTFE3 RNAiの組換えアデノウイルスを用い3T3-L1へ遺伝子導入しその変化を検討した。

② in vivo 解析

生体における機能解析を行うため、脂肪組織特異的にTFE3を発現するトランスジェニックマウスを作製し、生体における機能解析を行った。

(2)骨格筋

骨格筋特異的TFE3トランスジェニックマウスを作成し、運動と糖代謝の接点についての解析を行った。

(3)腎臓

腎臓におけるインスリンシグナルについてTFE3が関係するかを多様な遺伝子発現制御の中で解析を行った。

4. 研究成果

(1) 脂肪組織

脂肪細胞の分化におけるTFE3の機能について解析したところ、脂肪モデル細胞3T3-L1にアデノウイルスTFE3およびTFE3 RNAiを導入したところTFE3過剰発現では脂肪細胞の分化の抑制、逆にRNAiによるノックダウンでは分化の促進が見られており、脂肪細胞の分化にTFE3が関与することがあきらかとなった。

脂肪組織特異的にTFE3を発現する遺伝子改変マウスを作製した。その脂肪組織特異的TFE3発現マウスでは褐色脂肪組織での発現が白色脂肪組織比べ高かった。褐色脂肪組織は熱産生の責任臓器であることから、熱産生に影響があるかを検討した。TFE3トランスジェニックマウスでは低温刺激(4℃飼育)における体温変化に違いが生じ、低温状態でも体温の維持がなされており、正常マウスよりも体温が優位に高かった。

その際の遺伝子発現解析では熱産生に関わる遺伝子であるPGC-1αの発現上昇が観察され、そのプロモーター上にはTFE3が結合する配列が存在し、Luc assayおよびEMSA assayからPGC-1αがTFE3の直接的な標的遺伝子であることが明らかとなっており、現在、PGC-1αを含めた熱産生関連遺伝子に対するTFE3に影響について検討を継続して行っている。

(2) 骨格筋

骨格筋特異的TFE3発現マウスを作成し、その解析を行ってきた。TFE3トランスジェニックマウスでは筋肉中のグリコーゲン量の顕著な増加が見られており、糖代謝に対する影響が推測された。遺伝子発現でも糖輸送隊GLUT4およびグリコーゲン合成酵素Gysの発現が上昇しており、その結果、グリコーゲン合成能が上昇したと考えられる。グリコーゲン量の増加は血糖調節にも大きな影響を及ぼすことから生活習慣病に対する影響を継続して検討している。

また、運動負荷をTFE3トランスジェニックマウスに施すと正常マウスでの糖代謝改善効果よりもその効果は増加した。グルコー

ス負荷試験などの試験でその改善効果が見られた。つまり、TFE3は運動による生活習慣病改善効果を増強する能力を有すると考えられた。

(3) 腎臓

糖尿病性腎症における Akt 活性化に TFE3 が関与することが明らかとなった。TFE3 は新たな転写調節因子であるマイクロ RNA の発現を調節した。糖尿病性腎症の発症時には TGFb の活性化が知られているが、TFE3 は TGFb により活性化し、miR192 の発現を誘導した。この miR192 はインスリンシグナルの抑制因子 PTEN の発現を抑制する。そのため、TFE3 は結果的に PTEN の発現を抑制しインスリンシグナルを増強した。肝臓における TFE3 の機能解析ではインスリンシグナル分子 IRS-2 の発現を増加させることでインスリンシグナルを増強させたが、TFE3 は複数の経路からインスリンシグナルを増強することが明らかとなった (Kato M *Nature Cell Biology* 2009)。

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. Aoki N, Yokoyama R, Asai N, Ohki M, Ohki Y, Kusubata K, Heissig B, Hattori K, Nakagawa Y, Matsuda T. Adipocyte-Derived Microvesicles Are Associated with Multiple Angiogenic Factors and Induce Angiogenesis in Vivo and in Vitro. *Endocrinology*. 2010 in press 査読有
2. 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*. 2010 in press 査読有
3. 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*. 2010 ;285(15):11681-91. 査読有
4. Kato M, Putta S, Wang M, Yuan H, Lanting L, Nair I, Gunn A, Nakagawa Y, Shimano H, Todorov I, Rossi JJ, Natarajan R. TGF-beta activates Akt kinase through a microRNA-dependent amplifying circuit targeting PTEN. *Nature Cell Biology*. 2009 ;11(7):881-9. 査読有
5. Ishikawa M, Iwasaki Y, Yatoh S, Kato T, Kumadaki S, Inoue N, Yamamoto T, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Yahagi N, Kobayashi K, Takahashi A, Yamada N, Shimano H. Cholesterol accumulation and diabetes in pancreatic beta-cell-specific SREBP-2 transgenic mice: a new model for lipotoxicity. *J Lipid Res*. 2008 Dec;49(12):2524-34. 査読有
6. Kato T, Shimano H, Yamamoto T, Ishikawa M, Kumadaki S, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Yahagi N, Nakakuki M, Hasty AH, Takeuchi Y, Kobayashi K, Takahashi A, Yatoh S, Suzuki H, Sone H, Yamada N. Palmitate impairs and eicosapentaenoate restores insulin secretion through regulation of SREBP-1c in pancreatic islets. *Diabetes*. 2008 Sep;57(9):2382-92. 査読有
7. Inoue N, Yahagi N, Yamamoto T, Ishikawa M, Watanabe K, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Takeuchi Y, Kobayashi K, Takahashi A, Suzuki H, Hasty AH, Toyoshima H, Yamada N, Shimano H. Cyclin-dependent kinase inhibitor, p21WAF1/CIP1, is involved in adipocyte differentiation and hypertrophy, linking to obesity, and insulin resistance. *J Biol Chem*. 2008 Jul 25;283(30):21220-9. 査読有
8. Matsuzaka T, Shimano H, Yahagi N, Kato T, Atsumi A, Yamamoto T, Inoue N, Ishikawa M, Okada S, Ishigaki N, Iwasaki H, Iwasaki Y, Karasawa T, Kumadaki S, Matsui T, Sekiya M, Ohashi K, Hasty AH, Nakagawa Y, Takahashi A, Suzuki H, Yatoh S, Sone H, Toyoshima H, Osuga J, Yamada N. Crucial role of a long-chain fatty acid elongase, Elovl6, in obesity-induced insulin resistance. *Nat Med*. 2007 Oct;13(10):1193-202. 査読有
9. Yamamoto T, Shimano H, Inoue N, Nakagawa Y, Matsuzaka T, Takahashi A, Yahagi N, Sone H, Suzuki H, Toyoshima H, Yamada N. Protein kinase A suppresses sterol regulatory element-binding protein-1C expression via phosphorylation of liver X

receptor in the liver. J Biol Chem. 2007 Apr 20;282(16):11687-95. 査読有

[学会発表] (計 31 件)

1. Yoshimi NAKAGAWA, Hitoshi SHIMANO, Nobuhiro YAMADA CREBH is the new transcription factor for hepatic energy metabolism in fasted state 14th international Congress of Endocrinology (ICE2010) Official Satellite Symposia March 31, 2010 Kyoto Japan
2. 中川嘉, 徳重直子, 新行内晶子, 松坂賢, 石井清朗, 浦山修, 山田信博, 島野仁 脂質代謝調節における FGF21 を中心とした転写因子クロストークの解明 第 82 回 日本生化学会大会 2009 年 10 月 23 日 神戸
3. 中川嘉, 清水英寿, 矢部祥子, 島野仁, 松坂賢, 石井清明, 高橋昭光, 矢藤繁, 鈴木浩明, 浦山修, 山田信博 FGF21 を制御する転写因子 CREBH は生活習慣病を改善する 日本糖尿病学会 2009 年 5 月 22 日 大阪
4. 中川嘉 肝臓特異的発現転写因子 CREB-H の生活習慣病病態の分子メカニズム 日本内分泌学会総会 2009 年 4 月 24 日 前橋
5. 中川嘉, 矢部祥子, 島野仁, 浦山修, 山田信博 肝臓特異的発現転写因子 CREB-H の生活習慣病病態への機能解析 BMB2008 (第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 合同大会) 2008 年 12 月 10 日 神戸
6. 岩崎仁, 島野仁, 中川嘉, 松坂賢, 石井清朗, 小林和人, 矢藤繁, 高橋昭光, 鈴木浩明, 山田信博 骨格筋における TFE3 の機能解析 BMB2008 (第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 合同大会) 2008 年 12 月 10 日 神戸
7. 中川嘉 肝臓におけるエネルギー代謝調節因子 TFE3 のメタボリックシンドロームへの作用メカニズム 日本農芸化学会 2008 年度会 2008 年 3 月 29 日 名古屋
8. 中川嘉, 島野仁, 岩崎仁, 松坂賢, 高橋昭光, 鈴木浩明, 山田信博 TFE3 による脂肪細胞の分化への影響 第 50 回日本糖尿病学会年次学術集会 2007 年 5 月 25 日 仙台

[その他]

ホームページ等

<http://www.md.tsukuba.ac.jp/clinical-medicine/endocrinology/research/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中川 嘉 (NAKAGAWA YOSHIMI)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・講師

研究者番号 : 80361351