

Banyu Foundation Research Grant 2014—生活習慣病領域—

研究成果報告書(最終) <概要>

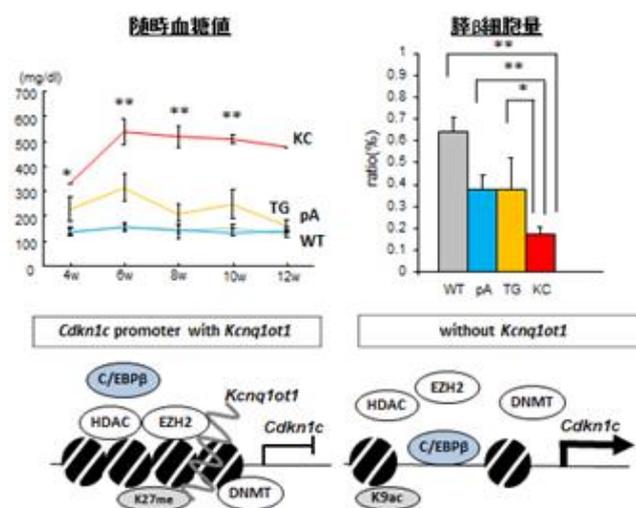
所 属	神戸大学大学院医学研究科 糖尿病・内分泌内科学
氏 名	浅原 俊一郎
研究テーマ	2型糖尿病候補遺伝子 Kcnq1 遺伝子領域による膵β細胞量調節機構の解明

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

**[研究目的]** 日本人2型糖尿病患者を対象とした大規模なSNP解析により、KCNQ1遺伝子が2型糖尿病感受性遺伝子として同定されてから8年経つが、糖尿病発症のメカニズムについてはまだ十分にわかっていない。我々はKcnq1遺伝子領域内より発現しているnon-coding RNA ‘Kcnq1ot1’発現低下が、エピジェネティクス修飾を介したCdkn1c発現亢進、膵β細胞量減少を引き起こすことを最近報告した(Asahara S et al. PNAS, 2015)。Cdkn1cの発現を調節する転写因子の一つとしてC/EBPβが挙げられるが、我々はC/EBPβが過食や肥満によって膵島に蓄積することを明らかにしている。そこで本研究計画では、Kcnq1ot1発現低下状態で膵β細胞にC/EBPβが蓄積すると、どのような影響が現れるかについて検討を行った。

**[手法]** Kcnq1ot1発現が減少したKcnq1ot1 truncationマウスとC/EBPβ過剰発現マウスを交配しKcnq1ot1 truncated C/EBPβ過剰発現マウス(KC)を作成した。KCマウスの代謝データ、膵β細胞量の測定を行い、野生型マウス(WT)、Kcnq1ot1 truncationマウス(pA)、C/EBPβ過剰発現マウス(TG)らと比較検討を行った。また高脂肪食負荷Kcnq1ot1 truncationマウスと膵β細胞特異的Cdkn1cノックアウトマウスを交配し作成された、高脂肪食負荷Kcnq1ot1 truncation×Cdkn1cヘテロノックアウトマウスの膵β細胞量測定も行っている。

**[成果]** KCマウスはWT群、pA群ならびにTG群と比較して、有意な随時血糖値の上昇および血清インスリン値の減少が認められ、膵β細胞量においても対照群と比して有意に減少していた(図上)。その機序として膵β細胞におけるCdkn1cの発現亢進が考えられたため、膵島におけるCdkn1c発現量を測定したところ、KCマウスの膵島で有意な発現亢進が認められた。これはKcnq1ot1発現が低下していることにより、クロマチン構造の緩みといったエピジェネティクス修飾が変化したことで、C/EBPβがCdkn1cプロモーターに結合しやすくなったためと考えられる(図下)。また、高脂肪食を負荷したKcnq1ot1 truncationマウスの膵島にもC/EBPβとCdkn1cの有意な発現亢進が認められたが、Cdkn1cヘテロノックアウトマウスとの交配により膵β細胞のCdkn1c発現量を元に戻してやると膵β細胞量も回復した。このことから、分子機序としてやはりCdkn1c発現変化が膵β細胞量調節に寄与していると考えられた。本研究計画の結果から、遺伝因子(Kcnq1遺伝子変異)と環境因子(C/EBPβ)の相乗効果が著明な膵β細胞不全を誘導することが示唆された。



## Banyu Foundation Research Grant 2014—生活習慣病領域—

## 研究成果報告書(最終) &lt;発表実績/予定一覧&gt;

所 属	神戸大学大学院医学研究科 糖尿病・内分泌内科学
氏 名	浅原 俊一郎

1. 論文発表実績	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。</li> <li>掲載年次順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。</li> <li>著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年(西暦)、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。</li> <li>国内外雑誌を問わない。</li> <li>印刷中は in press と記入、学会のアブストラクトおよび投稿中の論文は含めない。</li> <li>欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul>
1	Kimura K, Tanida M, Nagata N, Inaba Y, Watanabe H, Nagashimada M, Ota T, <u>Asahara S</u> , Kido Y, Matsumoto M, Toshinai K, Nakazato M, Shibamoto T, Kaneko S, Kasuga M, Inoue H. Centra insulin-action activates Kupffer cells by suppressing hepatic vagal activation through nicotinic alpha 7 acetylcholine receptor. Cell Rep 14(10):2362-2374, 2016 査読有
2	<u>浅原俊一郎</u> 、木戸良明 アジア人型感受性遺伝子 <i>Kcnq1</i> 欠損マウスを用いた病態解析 Diabetes Frontier 27:496-501, 2016 査読無
3	<u>浅原俊一郎</u> 、木戸良明 <i>Kcnq1</i> 遺伝子領域による膵β細胞量調節機構 分子糖尿病学 2016 19-27, 2016 査読無
4	<u>Asahara S</u> , Etoh H, Inoue H, Teruyama K, Shibutani Y, Ihara Y, Kawada Y, Bartolome A, Hashimoto N, Matsuda T, Koyanagi-Kimura M, Kanno A, Hirota Y, Hosooka T, Nagashima K, Nishimura W, Inoue H, Matumoto M, Higgins MJ, Yasuda K, Inagaki N, Seino S, Kasuga M, Kido Y. Paternal allelic mutation at the <i>Kcnq1</i> locus reduces pancreatic β cell mass via epigenetic modification of <i>Cdkn1c</i> . Proc Natl Acad Sci USA. 112(27):8332-8337, 2015 査読有
5	Matsuda T, Takahashi H, Mieda Y, Shimizu S, Kawamoto T, Matsuura Y, Takai T, Suzuki E, Koyanagi-Kimura M, <u>Asahara S</u> , Bartolome A, Yokoi N, Inoue H, Ogawa W, Seino S, Kido Y. Regulation of pancreatic β cell mass by cross-interaction between CCAAT enhancer binding protein β induced by endoplasmic reticulum stress and AMP-activated protein kinase activity. PLoS ONE. 10:e0130757, 2015 査読有
6	Kanno A, <u>Asahara S</u> , Masuda K, Matsuda T, Kimura-Koyanagi M, Seino S, Ogawa W, Kido Y. Compensatory hyperinsulinemia in high-fat diet-induced obese mice is associated with enhanced insulin translation in islets. Biochem Biophys Res Commun. 458:681-686, 2015 査読有
7	<u>浅原俊一郎</u> 、木戸良明 膵β細胞量の調節因子 最新医学 70: 487-495, 2015 査読無
8	<u>浅原俊一郎</u> 膵β細胞の <i>Kcnq1</i> 遺伝子領域におけるエピジェネティクス制御機構 内分泌・糖尿病・代謝内科 40: 268-274, 2015 査読無
9	<u>浅原俊一郎</u> 、木戸良明 膵β細胞のインスリン抵抗性 Diabetes Frontier 26: 321-325, 2015 査読無

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。</li> <li>・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。</li> <li>・ 国内外を問わない。</li> <li>・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul>		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2016年10月	11 <sup>th</sup> IDF-WPR Congress 2016 & 8 <sup>th</sup> AASD Scientific Meeting Matsuura Y, Takai T, Matsuda T, Terashi E, Kanno A, <b>Asahara S</b> , Kido Y. The role of Casein Kinase 2 in ER stress associated pancreatic $\beta$ cell failure.
2	2016年5月	第59回日本糖尿病学会年次学術集会 (シンポジウム) <b>浅原俊一郎</b> 、木戸良明 Regulation of pancreatic beta cell mass through type 2 diabetes susceptibility genes
3	2016年5月	第59回日本糖尿病学会年次学術集会 高井智子、松田友和、松浦有希、川本剛士、 <b>浅原俊一郎</b> 、木村真希、神野歩、鈴木江美、小川渉、木戸良明 膵 $\beta$ 細胞不全関連分子 C/EBP $\beta$ の安定化に対する casein kinase2 の役割
4	2016年5月	第59回日本糖尿病学会年次学術集会 鈴木江美、松田友和、川本剛士、松浦有希、高井智子、神野歩、木村真希、 <b>浅原俊一郎</b> 、小川渉、木戸良明 生物発光イメージング法による生存細胞内小胞体ストレスの定量化
5	2015年12月	第38回日本分子生物学会年会 松浦有希、高井智子、松田友和、川本剛士、三枝祐介、鈴木江美、 <b>浅原俊一郎</b> 、木村真希、神野歩、木戸良明 C/EBP $\beta$ の蛋白安定化に対する新規リン酸化部位の同定
6	2015年11月	7 <sup>th</sup> AASD Scientific Meeting Sugiura Y, <b>Asahara S</b> , Kawada Y, Ihara Y, Hara M, Kanno A, Kimura-Koyanagi M, Matsuda T, Seino S, Ogawa W, Kido Y. Histone Deacetylase Regulates Insulin Signaling via Two Pathways in Pancreatic $\beta$ -cells
7	2015年11月	第62回日本臨床検査医学会学術集会 原瑞季、 <b>浅原俊一郎</b> 、木戸良明 2型糖尿病原因遺伝子 Kcnq1 による膵 $\beta$ 細胞量調節機構の解析
8	2015年9月	51 <sup>st</sup> EASD Annual Meeting. Masuda K, Kanno A, Yoshitomi R, <b>Asahara S</b> , Matsuda T, Kimura M, Shibutani Y, Yokoi N, Kasuga M, Seino S, Kido Y. GCN2, a type 2 diabetes mellitus susceptibility gene, is associated with the regulation of pancreatic $\beta$ -cell mass.
9	2015年6月	75 <sup>th</sup> Scientific Session of American Diabetes Association. <b>Asahara S</b> , Ihara Y, Inoue H, Teruyama K, Hara M, Kimura M, Matsuda T, Seino S, Kido Y. Reduction in Pancreatic $\beta$ -Cell Mass Caused by Enhanced Expression of Cdkn1c via Interaction between C/EBP $\beta$ and Epigenetic Control.

10	2015年6月	75th Scientific Session of American Diabetes Association Kanno A, Masuda K, <u>Asahara S</u> , Kimura M, Matsuda T, Kasuga M, Ogawa W, Seino S, Kido Y. GCN2, a type 2 diabetes mellitus susceptibility gene, is associated with the regulation of pancreatic $\beta$ -cell mass.
11	2015年6月	75th Scientific Session of American Diabetes Association. <u>Asahara S</u> , Ihara Y, Inoue H, Teruyama K, Hara M, Kimura M, Matsuda T, Seino S, Kido Y. Reduction in Pancreatic $\beta$ -Cell Mass Caused by Enhanced Expression of Cdkn1c via Interaction between C/EBP $\beta$ and Epigenetic Control.
12	2015年6月	75th Scientific Session of American Diabetes Association Kanno A, Masuda K, <u>Asahara S</u> , Kimura M, Matsuda T, Kasuga M, Ogawa W, Seino S, Kido Y. GCN2, a type 2 diabetes mellitus susceptibility gene, is associated with the regulation of pancreatic $\beta$ -cell mass.
13	2015年5月	第58回日本糖尿病学会年次学術集会 原瑞季、 <u>浅原俊一郎</u> 、伊原佑香、井上裕行、照山杏子、松田友和、木村真希、中山敬一、木戸良明 膵 $\beta$ 細胞における細胞周期調節因子 p57 の機能解析
14	2015年5月	第58回日本糖尿病学会年次学術集会 杉浦佑実子、 <u>浅原俊一郎</u> 、川田有希奈、佐藤綾香、木村真希、松田友和、木戸良明 ヒストン脱アセチル化酵素(HDACs)による膵 $\beta$ 細胞量調節機構の解析
15	2015年5月	第58回日本糖尿病学会年次学術集会 高井智子、松田友和、川本剛士、松浦有希、三枝祐介、鈴木江美、 <u>浅原俊一郎</u> 、木村真希、神野歩、木戸良明 膵 $\beta$ 細胞不全関連因子 C/EBP $\beta$ の発現制御機構の解明
16	2015年5月	第58回日本糖尿病学会年次学術集会 森田愛梨、細岡哲也、竹村佑己、木村真希、鈴木夏実、 <u>浅原俊一郎</u> 、神野歩、松田友和、清野進、木戸良明 膵 $\beta$ 細胞における p38 経路の活性化は膵島の慢性炎症を惹起することにより膵 $\beta$ 細胞不全の病態形成に関与する
17	2015年4月	第88回日本内分泌学会学術総会 <u>浅原俊一郎</u> 、杉浦佑実子、川田有希奈、伊原佑香、原瑞季、木村真希、松田友和、清野進、小川渉、木戸良明 膵 $\beta$ 細胞におけるヒストン脱アセチル化酵素 HDAC の機能解析
18	2015年4月	第88回日本内分泌学会学術総会 増田勝久、神野歩、 <u>浅原俊一郎</u> 、吉富理紗、松田友和、木村真希、渋谷由紀、廣田勇士、横井伯英、春日雅人、清野進、木戸良明 2型糖尿病感受性遺伝子 GCN2 は膵 $\beta$ 細胞量の調節に関与する
19	2015年4月	第88回日本内分泌学会学術総会 木村真希、森田愛梨、三上智子、神野歩、松田友和、 <u>浅原俊一郎</u> 、清野進、小川渉、木戸良明 DPP-4 阻害薬 MK-626 が膵 $\beta$ 細胞特異的 mTORC1 活性亢進モデルマウスに及ぼす影響
20	2015年4月	第88回日本内分泌学会学術総会 川本剛士、松田友和、三枝祐介、高井智子、松浦有希、 <u>浅原俊一郎</u> 、木村真希、神野歩、木戸良明 C/EBP $\beta$ の蛋白安定化に関与する新規リン酸化部位の同定

21	2015年2月	第29回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会 <u>浅原俊一郎</u> 、伊原佑香、照山杏子、原瑞季、木村真希、松田友和、春日雅人、清野進、小川渉、木戸良明 2型糖尿病原因遺伝子 Kcnq1 と高脂肪食が膵β細胞量に及ぼす相乗的効果の検討
22	2015年2月	第29回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会 神野歩、 <u>浅原俊一郎</u> 、増田勝久、吉富理紗、松田友和、木村真希、渋谷由紀、廣田勇士、横井伯英、春日雅人、清野進、小川渉、木戸良明 2型糖尿病感受性遺伝子 GCN2 は膵β細胞量の調節に關与する
23	2015年2月	第29回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会 松田友和、三枝祐介、川本剛士、松浦有希、高井智子、 <u>浅原俊一郎</u> 、木村真希、神野歩、小川渉、木戸良明 小胞体ストレス関連分子 C/EBPβを介した膵β細胞量調節機構の解明
<b>3. 投稿、発表予定</b>		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	未定	Kanno A, <u>Asahara S</u> , Masuda K, Yoshitomi R, Shibutani Y, Matsuda T, Kimura-Koyanagi M, Takai T, Suzuki E, Yokoi N, Wei FY, Tomizawa K, Ogawa W, Seino S, Kasuga M, Kido Y. GCN2 senses amino acid deficiency during high fat feeding, and is associated with the regulation of pancreatic β-cell mass.
2	未定	Kawada Y, <u>Asahara S</u> , Sugiura Y, Sato A, Furubayashi A, Bartolome A, Terashi-Suzuki E, Takai T, Kanno A, Koyanagi-Kimura M, Matsuda T, Hashimoto N, Kido Y. Histone Deacetylase Regulates Insulin Signaling via Two Pathways in Pancreatic β Cells.
3	2016年11月	3 <sup>rd</sup> Annual Meeting of Daegyung Diabetes Endocrine Society (Symposium) <u>Asahara S</u> Regulation of pancreatic beta cell mass through type 2 diabetes susceptibility genes