

研究助成 2017 – 生活習慣病領域 –

研究成果報告書（最終） <概要>

所 属	熊本大学大学院生命科学研究部 総合医薬科学部門 代謝・循環医学分野 代謝内科学講座
氏 名	阪口 雅司
研究テーマ	メタボリックシンドロームにおける褐色脂肪組織再生の分子機構の研究

- ・ 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）

【背景・目的】現代社会における運動不足、過食等の生活習慣の乱れから、持続的高血糖や脂質異常症をきたし、全身的にインスリン抵抗性を示す 2 型糖尿病を惹起するとされる。申請者らは、メタボリックシンドローム状態での全身組織のインスリン抵抗性に対して、脂肪組織自体のインスリンシグナルが及ぼす影響について検討した。その結果脂肪組織のインスリン感受性そのものが代謝異常の一次的原因となることを明らかにした。しかし、脂肪組織のインスリンシグナルの詳細に関してはまだ解明されていない。その原因は、①インスリンシグナルが、インスリン受容体 (IR) と IGF 1 受容体 (IGF1R) の両者を介し、ほぼ共通の二次経路で伝達されること、また、②脂肪組織にはエネルギー貯蔵の為の白色脂肪と、エネルギーを消費して熱産生に関わる褐色脂肪が存在し、これらは臓器固有の遺伝子発現プロファイルを有すると考えられるからである。またこれらは分化系譜が異なり、その再生の刺激伝達シグナルと標的が異なる。申請者は、テーマとして脂肪組織インスリンシグナルの分子解析を進め、その標的転写因子を明らかにする。

【方法】褐色脂肪組織の維持および再生におけるインスリンシグナルの標的因子を解明するために IR、IGF1R ダブルノックアウト (DKO) 細胞に IR、IGF1R、IR の細胞外と IGF1R の細胞内ドメイン入れ替えたキメラレセプターを単独発現する褐色脂肪前駆細胞株を揃えた (図 1)。褐色脂肪前駆細胞におけるリガンド刺激誘導性の IR/IGF1R 結合タンパクをマスマスペクトロメトリーに基づくプロテオミクスによって網羅的に検索を用いる。

【結果】IR/IGF1R 結合タンパクとして 707 種類の結合ペプチドを候補として抽出した。このうち 11 個のタンパクが、インスリン/IGF1 刺激に依存して有意に結合し、最終的にレセプターとともに核内に移動する標的分子として forkhead box protein ファミリーメンバーである転写因子 FoxK1/2 を同定した。これまでインスリンシグナルの重要な転写因子として明らかにされている FoxO1 は、核から細胞質に移動する。これとは異なり、FoxK1/2 はインスリン刺激依存性にレセプターとともに核内に移動する「脂肪組織の維持及び再生に関わる制御因子」である。FoxK1/2 のインスリン刺激によるリン酸化領域を、ホスホプロテオミクス解析を用いて詳細に解析したところ、GSK3 キナーゼのコンセンサス配列を有し、FoxK1/2 の細胞質への移動は GSK3 キナーゼによって制御されていた。一方、核への移行は m-TOR シグナルによって制御された。FoxK1/2 は細胞増殖に関連する Cdkn1B の転写制御プロモーターに結合する。FoxK1 及び FoxK2 ノックダウン細胞によって転写因子として標的となる分子群を RNA-seq 解析及び motif の網羅的データベース解析によって、その制御経路を明らかにした。これらによって、FoxO1 は脂肪細胞に対する negative regulator として働くのに対して、FoxK1/2 は褐色脂肪前駆細胞の増殖、細胞死やミトコンドリア活性の positive 制御を担うことを明らかとした (図 2)。

(Sakaguchi M. et al., *Nature Commun.* 10(1):1582. 2019.)

褐色脂肪細胞における新規インスリン依存性ミトコンドリア活性化経路として転写因子 FoxK1/2 を同定した。この経路は褐色脂肪細胞の重要な機能とその維持に関与することから、褐色脂肪の制御を通じた肥満、2 型糖尿病、メタボリックシンドロームに対する次世代の治療の糸口を示すものと期待できる。

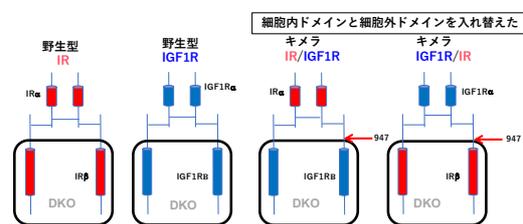


図 1: IR/IGF1R DKO の褐色脂肪前駆細胞に野生型もしくはキメラな IR/IGF1R 受容体を再導入した

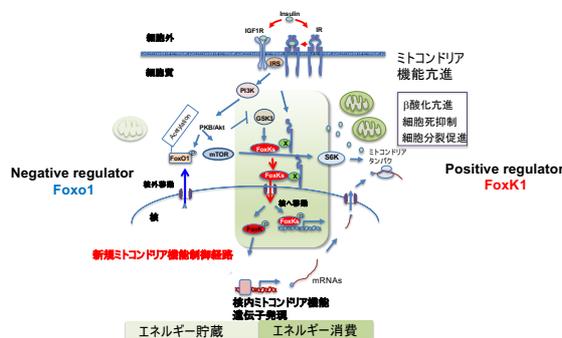


図 2: インスリンシグナル依存性新規ミトコンドリア機能制御経路 (褐色脂肪細胞)

研究助成 2017 – 生活習慣病領域 –

研究成果報告書（最終） <発表実績/予定一覧>

所	属	熊本大学大学院生命科学研究部 総合医薬科学部門 代謝・循環医学分野 代謝内科学講座
氏	名	阪口 雅司

1. 論文発表実績

- ・ 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。
- ・ 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。
- ・ 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。
- ・ 国内外雑誌を問わない。
- ・ 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。
- ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。

1	Leiria LO, Wang CH, Lynes MD, Yang K, Shamsi F, Sato M, Sugimoto S, Chen EY, Bussberg V, Narain NR, Sansbury BE, Darcy J, Huang TL, Kodani SD, <u>Sakaguchi M</u> , Rocha AL, Schulz TJ, Bartelt A, Hotamisligil GS, Hirshman MF, van Leyen K, Goodyear LJ, Blüher M, Cypess AM, Kiebish MA, Spite M, Tseng YH. 12-Lipoxygenase Regulates Cold Adaptation and Glucose Metabolism by Producing the Omega-3 Lipid 12-HEPE from Brown Fat. <i>Cell Metabolism</i> S1550-4131(19)30374-2. 2019. (査読有)
2	Li ME, Lauritzen HPMM, O'Neill BT, Wang CH, Cai W, Brandao BB, <u>Sakaguchi M</u> , Tao R, Hirshman MF, Softic S, Kahn CR. Role of p110a subunit of PI3-kinase in skeletal muscle mitochondrial homeostasis and metabolism. <i>Nature Commun</i> 10(1):3412. 2019. (査読有)
3	Shimoda S, Sakamoto W, Hokamura A, Matsuo Y, Sekigami T, Ichimori S, Iwashita S, Ishii N, Otsu K, Yoshimura R, Nishiyama T, <u>Sakaguchi M</u> , Nishida K, Araki E. Comparison of the efficacy and safety of once-daily insulin degludec/insulin aspart (IDegAsp) and long-acting second-generation basal insulin (insulin degludec and insulin glargine 300 units/mL) in insulin-naïve Japanese adults with type 2 diabetes: a pilot, randomized, controlled study. <i>Endocr J</i> EJ19-0179. 2019. (査読有)
4	Goto R, Kondo T, Ono K, Kitano S, Miyakawa N, Watanabe T, <u>Sakaguchi M</u> , Sato M, Igata M, Kawashima J, Motoshima H, Matsumura T, Shimoda S, Araki E. Mineralocorticoid Receptor May Regulate Glucose Homeostasis through the Induction of Interleukin-6 and Glucagon-Like peptide-1 in Pancreatic Islets. <i>J Clin Med</i> 8(5). pii: E674, 2019. (査読有)
5	<u>Sakaguchi M</u> , Cai W, Wang CH, Cederquist CT, Damasio M, Homan EP, Batista T, Ramirez AK, Gupta MK, Steger M, Albrechtsen NJW, Singh SK, Araki E, Mann M, Enerbäck S, Kahn CR. FoxK1 and FoxK2 in Insulin Regulation of Cellular and Mitochondrial Metabolism. <i>Nature Commun</i> 10(1):1582. 2019. (査読有)
6	Ramirez AK, Dankel S, Cai W, <u>Sakaguchi M</u> , Kasif S, Kahn CR. Membrane metallo-endopeptidase (Neprilysin) regulates inflammatory response and insulin signaling in white preadipocytes. <i>Molecular Metabolism</i> (22):21-36, 2019. (査読有)
7	Batista TM, Cai W, Garcia-Martin R, Konishi M, O'Neill BT, <u>Sakaguchi M</u> , Jung DY, Kim JH, Kim JK, Kahn CR. Multi-level Transcriptional Remodeling by Insulin in Muscle and Liver <i>in Vivo</i> . <i>Cell Reports</i> 26(12): 3429-3443.e3. 2019. (査読有)
8	Kitano S, Kondo T, Matsuyama R, Ono K, Goto R, Takaki Y, Hanatani S, <u>Sakaguchi M</u> , Igata M, Kawashima J, Motoshima H, Matsumura T, Kai H, Araki E. Impact of hepatic HSP72 on insulin signaling. <i>Am J Physiol Endocrinol Metab</i> 316(2): E305-E318 2019. (査読有)

9	Takahashi H, Alves C, Stanford K, Middelbeek R, Nigro P, Ryan R, Xue R, <u>Sakaguchi M</u> , Lynes M, So K, Mul J, Lee M. Y, Balan E, Pan H, Dreyfuss J, Hirshman M, Azhar M, Hannukainen J, Kalliokoski K, Nielsen S, Pedersen B, Kahn C.R, Tseng YH, Nuutila P, Goodyear L. TGF- β 2 is an exercise-induced adipokine that regulates glucose and fatty acid metabolism. <i>Nature Metabolism</i> (2):291-303, 2019. (査読有)
10	Cai W, Xue C., <u>Sakaguchi M.</u> , Konishi M., Shirazian A., Ferris H. A., Li M., Yu R., Kleinridders A., Pothos E. N., C. & Kahn C. R. Insulin regulates astrocyte gliotransmission and modulates behavior. <i>Journal Clinical Investigation</i> 128(7):2914-2926, 2018. (査読有)
11	Altindis E, Cai W, <u>Sakaguchi M</u> , Zhang F, Guoxiao W, Liu F, Meyts PD, Gelfanov V, Pan H, DiMarchi R, Kahn CR: Viral insulin-like peptides activate human insulin and IGF-1 receptor signaling: A paradigm shift for host-microbe interactions. <i>Proc Natl Acad Sci USA</i> 115(10):2461-2466, 2018. (査読有)
12	Ono K, Igata M, Kondo T, Kitano S, Takaki Y, Hanatani S, <u>Sakaguchi M</u> , Goto R, Senokuchi T, Kawashima J, Furukawa N, Motoshima H, Araki E: Identification of microRNA that represses IRS-1 expression in liver. <i>PLoS One</i> 13:e0191553, 2018. (査読有)
13	Konishi M, <u>Sakaguchi M</u> , Lockhart SM, Cai W, Li ME, Homan EP, Rask-Madsen C, Kahn CR: Endothelial insulin receptors differentially control insulin signaling kinetics in peripheral tissues and brain of mice. <i>Proc Natl Acad Sci USA</i> 114(40):E8478-E8487, 2017. (査読有)
14	阪口雅司, 荒木栄一: 日本臨牀 別冊「内分泌症候群(第3版) IV-その他の内分泌疾患を含めて」 VIII. 糖代謝9. インスリン受容体異常症(A型, B型) 日本臨牀:58-64, 2019. (査読無)
15	阪口雅司, 荒木栄一: 誘導可能な脂肪特異的インスリン受容体欠損マウスの解析. <i>Diabetes Journal (糖尿病と代謝)</i> 46(2): 37-39, 2018. (査読無)
16	阪口雅司, 荒木栄一: 脂肪細胞におけるインスリン受容体の役割. <i>糖尿病学</i> 2018:41-48, 2018. (査読無)
17	阪口雅司, 荒木栄一: 特集/激増する糖尿病の診療最前線 糖尿病診断の進め方. <i>臨床と研究</i> 96(1):7-14, 2018. (査読無)
18	阪口雅司: 成熟個体のメタボリックシンドローム状態における脂肪組織のダイナミックな再生能. <i>臨床免疫・アレルギー科</i> 68(4):423-429, 2017. (査読無)

様式 4-2②

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 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。 ・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ・ 国内外を問わない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2019年10月25日	発表学会名：第57回日本糖尿病学会 九州地方会. シンポジウム. 口演 発表者： <u>阪口雅司</u> 脂肪組織のインスリンシグナルのインパクトと新規経路の同定
2	2019年9月19日	発表学会名：55th Annual Meeting of the EASD, Barcelona. Oral. 発表者： <u>Sakaguchi M</u> FoxK1 and FoxK2 are positive regulators for IR and IGF1R signalling in cell proliferation and metabolism.
3	2019年6月8日	発表学会名：The 79th ADA scientific meeting. Oral. 発表者： <u>Sakaguchi M</u> Unique role of the $\alpha 4$ component for S6-kinase activity in Metabolic Regulation and anti- Apoptotic effect in Brown Adipose Tissue
4	2019年5月24日	発表学会名：第62回日本糖尿病学会年次学術集会. 口演. 発表者： <u>阪口雅司</u> 褐色脂肪組織におけるインスリンシグナル新規標的分子 FoxK1/2 の同定とその機能解析.
5	2019年5月23日	発表学会名：The 11th Scientific Meeting of the Asian Association for the Study of Diabetes. Symposium. Oral. 発表者： <u>Sakaguchi M.</u> Molecular mechanism for adipose tissue dynamics
6	2018年10月13日	発表学会名：第56回日本糖尿病学会 九州地方会. シンポジウム. 口演. 発表者： <u>阪口雅司</u> 脂肪組織のダイナミクス.
7	2018年10月8日	発表学会名：第39回日本肥満学会. 口演. 発表者： <u>阪口雅司</u> 2型糖尿病での ApoC2 発現異常と脂肪組織のインスリン感受性.
8	2018年6月24日	発表学会名：The 78th ADA scientific meeting, Oral. 発表者： <u>Sakaguchi M</u> FoxK1/K2 are new important components of IR and IGF1R signaling and control of cell proliferation and metabolism
9	2018年5月26日	発表学会名：第61回日本糖尿病学会年次学術集会. シンポジウム. 口演. 発表者： <u>阪口雅司</u> インスリン抵抗性下における白色及び褐色脂肪組織の維持及び再生.
10	2018年5月24日	発表学会名：第61回日本糖尿病学会年次学術集会. シンポジウム. 口演. 発表者： <u>阪口雅司</u> 脂肪細胞の機能を制御するインスリンシグナル伝達経路.
11	2018年4月27日	発表学会名：第91回日本内分泌学会学術総会. 口演. 発表者： <u>阪口雅司</u> Dynamic turnover of white and brown adipose tissues in adult mice of severe metabolic syndrome due to inducible fat-specific IR/IGF1R deletion

12	2017年12月2日	発表学会名：第29回分子糖尿病学シンポジウム. 口演. 発表者： <u>阪口雅司</u> インスリン抵抗性下における褐色脂肪組織の維持及び再生機序の研究.
13	2017年10月8日	発表学会名：第38回日本肥満学会. 口演. 発表者： <u>阪口雅司</u> 脂肪組織インスリン抵抗性によるメタボリックシンドローム病態下の白色及び褐色脂肪組織の再生.
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等