

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	千葉大学大学院医学研究院 内分泌代謝血液老年内科学
氏名	佐久間一基
研究テーマ	FDXR による鉄代謝制御を介した肝インスリン抵抗性の分子機構の解明

- ・ 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

非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD)・糖尿病ではインスリン抵抗性増大に伴う肝糖新生亢進が高血糖の一因となるが、その病態は複雑で十分には解明されていない。肝臓は生体内で最も多くの貯蔵鉄を有し、NAFLD において肝鉄過剰蓄積が高頻度にみられる。本研究では鉄代謝制御を介した肝臓におけるインスリン抵抗性の分子機構を解明することを目的とした。p53 下流遺伝子で鉄代謝調節作用を有する ferredoxin reductase(FDXR)に着目して、NAFLD 病態における p53-FDXR の活性化による鉄代謝制御を介した肝臓におけるインスリン抵抗性の分子機構について検討した。

研究手法

(1)高脂肪食負荷肥満モデルマウスを用いた p53 活性化と FDXR の発現解析

高脂肪食負荷肥満モデルマウスを構築し、耐糖能評価、マウスの肝臓における遺伝子発現解析、脂肪蓄積、鉄蓄積、酸化ストレスの評価を行った。

(2)FDXR の鉄代謝制御を介した肝臓での役割

マウスの尾静脈から、アデノウイルスを静注し、マウス肝臓での FDXR 過剰発現、FDXR ノックダウンする系を確立した。FDXR の肝臓における鉄代謝、糖代謝に及ぼす影響を検討した。

(3)FDXR による糖新生制御機構の検討

FDXR ノックダウンマウスの肝臓における肝糖新生系酵素の遺伝子発現解析と肝糖新生酵素の転写因子である FOXO1 の核内局在の評価を行った。

(4)アデノウイルスベクターと CRISPR/Cas9 を組み合わせた肝特異的 FDXR ノックアウトマウス作製

アデノウイルスベクターに CRISPR/Cas9 システムを組み込む系を構築し、FDXR gRNA 発現アデノウイルスをマウス尾静脈から投与し、肝臓における FDXR のノックアウトを行った。

研究成果

高脂肪食負荷により、肝臓への脂肪蓄積・血糖上昇、鉄蓄積、酸化ストレスの亢進、p53 活性化に伴う FDXR の発現上昇を認めた。FDXR の肝臓特異的過剰発現を行うと、肝臓の Fe²⁺低下と耐糖能改善・糖新生抑制を認めた。肝臓特異的 FDXR ノックダウンでは Fe²⁺蓄積と耐糖能の悪化を認めた。肝臓特異的 FDXR ノックダウンにより、肝臓における糖新生酵素の発現上昇を認めた。また、肝糖新生酵素の転写因子である FOXO1 の核内局在の増加を認めた。FDXR gRNA 発現アデノウイルスをマウス尾静脈から投与すると、肝臓での FDXR 発現低下を認め、耐糖能の悪化を認めた。本研究の結果から、FDXR は肝臓への鉄蓄積の抑制と糖新生抑制を行うことが示された。FDXR による鉄代謝制御が新たな糖尿病治療の創薬標的として期待される。

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	千葉大学大学院医学研究院 内分泌代謝血液老年内科学
氏 名	佐久間一基

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	<u>Sakuma I</u> , Nagano H, Yoshino I, Yokote K, Tanaka T. Ceritinib Aggravates Glycemic Control in Insulin-treated Patients with Diabetes and Metastatic ALK-positive Lung Cancer Intern Med 58(6) 817-820, 2019 （査読あり）
2	<u>Sakuma I</u> , Saito J, Matsuzawa Y, Omura M, Matsui S, Nishikawa T. A Unique Case of Renovascular Hypertension due to Fibromuscular Dysplasia in an Extra-renal Artery Intern Med 57(18) 2689-2694, 2018 （査読あり）
3	Nagano H, Hashimoto N, Nakayama A, Suzuki S, Miyabayashi Y, Yamato A, Higuchi S, Fujimoto M, <u>Sakuma I</u> , Beppu M, Yokoyama M, Suzuki Y, Sugano S, Ikeda K, Tatsuno I, Manabe I, Yokote K, Inoue S, Tanaka T. p53-inducible DPYSL4 associates with mitochondrial supercomplexes and regulates energy metabolism in adipocytes and cancer cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 14;115(33):8370-8375, 2018 （査読あり）
4	Tamura A, Ogasawara T, Fujii Y, Kaneko H, Nakayama A, Higuchi S, Hashimoto N, Miyabayashi Y, Fujimoto M, Komai E, Kono T, <u>Sakuma I</u> , Nagano H, Suzuki S, Koide H, Yokote K, Iseki K, Oguma R, Matsue H, Nojima H, Sugiura K, Yoshitomi H, Ohtsuka M, Rahmutulla B, Kaneda A, Inoshita N, Ogawa S, Tanaka T. Glucagonoma with necrolytic migratory erythema: metabolic profile and detection of biallelic inactivation of DAXX gene. J Clin Endocrinol Metab 1;103(7):2417-2423, 2018 （査読あり）
5	<u>Sakuma I</u> , Koide H, Yoshida T, Yamato A, Fujimoto M, Tamura A, Komai E, Kono T, Nagano H, Horiguchi K, Yokote K, Tanaka T. CONGESTIVE HEART FAILURE SECONDARY TO A TSH-SECRETING PITUITARY ADENOMA AGGRAVATED BY TAKOTSUBO CARDIOMYOPATHY IN AN ELDERLY PATIENT. AACE Clinical Case Reports 4 e115-e123, 2018 （査読あり）

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5月	○佐久間一基、姚躍、藤本真徳、永野秀和、横手幸太郎、田中知明 FBP1 ミスセンス変異による FBPase 欠損症発症メカニズムの解明 第 92 回 日本内分泌学会学術総会 O3-19-24 仙台
2	2019年3月	○Ikki Sakuma, Yue Yao, Masanori Fujimoto, Hidekazu Nagano, Koutaro Yokote and Tomoaki Tanaka Characterization and Categorization Based on Genotype-Biochemical Phenotype Association in Fructose-1,6-Bisphosphatase Deficiency ENDO2019 MON-188 New Orleans, USA (Outstanding Abstract Awards)
3	2018年11月	○佐久間一基、姚躍、藤本真徳、永野秀和、横手幸太郎、田中知明 FBPase 欠損症におけるミスセンス変異の分子病態の解明 第 28 回臨床内 分泌代謝 Update EP09 福岡（優秀ポスター賞）
4	2018年5月	○佐久間一基、姚躍、横手幸太郎、田中知明 p53 下流遺伝子 FDXR に よる鉄代謝依存的 ROS 制御を介した肝糖新生の調節機構 第 61 回日本 糖尿病学会年次学術集会 Ⅲ-14-28 東京
5	2018年4月	○佐久間一基、姚躍、藤本真徳、永野秀和、横手幸太郎、田中知明 FBPase 欠損症における新規 FBP1 変異の同定と機能解析 第 91 回日本 内分泌学会学術総会 O1-10-19（高得点演題）
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2020年度内	現在論文投稿準備中
2		
3		
4		