

200707040A

厚生労働科学研究研究費補助金

ヒトゲノムテラード研究事業

小胞体ストレスによるインスリン分泌障害と糖尿病治療法開発

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 岡 芳知

平成20(2008)年 4月

# 目 次

I. 総括研究報告	
小胞体ストレスによるインスリン分泌障害と糖尿病治療法開発に関する研究-----	1
岡 芳知	
II. 分担研究報告	
1. 膵 $\beta$ 細胞保持機構からの治療法開発に関する研究 -----	6
片桐 秀樹	
2. 遺伝子解析・ウオルフラム症候群の治療法開発に関する研究 -----	10
谷澤 幸生	
3. 小胞体ストレス関連遺伝子の機能解析と結合蛋白同定に関する研究 -----	13
浅野 知一郎	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	15
IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----	18

小胞体ストレスによるインスリン分泌障害と糖尿病治療法開発に関する研究

主任研究者 岡 芳知 東北大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨

現代の飽食・肥満・運動不足は膵β細胞にインスリン分泌の増加を強要する。このような膵β細胞負荷状況下で小胞体ストレスが過大となると膵β細胞はアポトーシスに陥ることから、2型糖尿病の発症機序として、小胞体ストレスによる膵β細胞の減少が注目される。本研究では、糖尿病をきたすウオルフラム症候群原因遺伝子WFS1を切り口として小胞体ストレス関連遺伝子に焦点をあて、膵β細胞を保持・増加させる新規治療法の開発、および、膵β細胞が減少しやすい易糖尿病発症者の簡易抽出システムの開発とその患者応用を目的とする。また、我々は神経系による臓器間ネットワークにより、各臓器の代謝が調節されていることを発見した。膵β細胞もそのターゲットの一つであることを見出しており、この機構を利用し、膵β細胞を増加させる治療法を開発することも一つの方策として位置づける。

WFS1欠損マウスの膵β細胞の解析から、翻訳抑制因子としてよく知られているeukaryotic initiation factor 4E (eIF4E)-binding protein (4E-BPs)のアイソフォームである4E-BP1が小胞体ストレス下では転写因子ATF4を介して発現が増加することを見出した。この翻訳抑制因子が酵母やショウジョウバエにおいてはストレス状況下で重要な役割を果たしていることはよく知られていたが、哺乳類でのストレス下での反応を見出したのは我々が初めてである。この発現増加は小胞体ストレスで増加する転写因子ATF4の制御下にあり、4E-BP1のイントロン1内にある2個のATF結合部位への結合を介していることを見出した。4E-BP1欠損β細胞株を樹立して検討すると、小胞体ストレス下での生存能が低下しており、これは小胞体ストレス下での翻訳抑制が十分でなく、特にアポトーシスを誘導するCHOPの発現が小胞体ストレス暴露の後期に野生型β細胞と比較し増加しており、生存能低下の一因と考えられた。さらに、WFS1欠損マウスあるいはAkitaマウスと4E-BP1欠損マウスを交配して得られた二重変異マウスでは、WFS1欠損マウスあるいはAkitaマウスそのものよりβ細胞の減少が促進され、血糖も悪化することが認められた。これらの成績から、4E-BP1は、小胞体ストレスに対して発現が誘導され、膵β細胞を慢性小胞体ストレスから保護する役割を担うと考えられた(Yamaguchi S et al. Cell Metabolism 2008)。臓器間代謝情報ネットワークに関しては、肝臓へのPPAR $\gamma$ 2発現で血圧の上昇を認め、 $\beta$ 受容体欠損マウスを用いた検討から、この血圧上昇は交感神経活性化を介したものであることが確認された。そこで、RNA干渉の手法を用いて肥満モデルマウスの肝臓におけるPPAR $\gamma$ 発現を抑制すると、肥満に伴う血圧上昇が抑制された。さらに、肥満モデルマウスやラットの迷走神経肝枝を切断することで、肥満による血圧上昇が抑制され、肝PPAR $\gamma$ 発現に由来する迷走神経求心路・交感神経遠心路を介するシグナルは、肥満の際の高血圧発症に大きく関与していることが明らかとなった(投稿中)。遺伝子の関与が大きいと考えられる35歳以下発症2型糖尿病患者(100例)で、スーパーノーマル100例を対照として、ゲノムワイドのSNP解析を行い、新たな糖尿病関連遺伝子候補を数種類得た。2006-2007年に世界で検出された糖尿病関連遺伝子も同時に検出されていることから、本アプローチ法が正しいと思われる、さらに多数の糖尿病患者で検討を進めている。

分担研究者

片桐 秀樹

東北大学・大学院医学系研究科・教授

谷澤 幸生

山口大学・大学院医学研究科・教授

浅野 知一郎

広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

A. 研究目的

2型糖尿病は増え続けている。糖尿病は年余の末に血管合併症をきたす。網膜症による失明は年間3,000

人以上、腎症のための新規血液透析導入は年間13,500人以上となり、血液透析だけでも年間600万円 $\times$ 13,500人=810億円の医療費の増加となる。糖尿病の予防と優れた治療法開発は国民の健康・医療における緊急の課題である。

なぜ糖尿病は増加しているのか。現代の飽食と運動不足はインスリン分泌を強要する。この環境下で膵β細胞の小胞体ストレスが過大となると細胞はアポトーシスに陥る。このβ細胞数減少に着目することが、最近の糖尿病増加を解く鍵であり、新規治療法につながると考える。

2型糖尿病患者での膵β細胞数の減少は過去3年の間に世界で広く認識されることとなった。米国(Butler, Diabetes 2003)や韓国(Yoon, JCEM 2003)から膵β細胞数の減少(健常者の半分以下)が示され、アポトーシスの増加によることも明らかとなった。この膵β細胞数減少に現代生活における小胞体ストレスが深く関わることが、大きな注目を集めている。

そこで、本研究は、この膵β細胞のアポトーシスを惹起する小胞体ストレスに焦点をあて、膵β細胞の減少をきたしやすい易糖尿病発症者の簡易抽出システムの開発および膵β細胞を増加させる新規治療法の開発を目的とする。

## B. 研究方法

### 1) 膵β細胞の小胞体ストレス応答機構の解明から創薬ターゲットを見出す

小胞体ストレス下にあるWFS1欠損マウスと野生型マウスから膵ラ島を単離し、DNAマイクロアレイを用いて発現に違いがある遺伝子を網羅的に見出す。発現に変化のある有力遺伝子については、さらに膵β細胞株での小胞体ストレスによる発現変化、欠損細胞さらには遺伝子欠損マウス膵ラ島でのアポトーシス、糖尿病発症を検討する。また、単離膵ラ島にERストレスを負荷し、発現変化に違いがみられる遺伝子をDNAマイクロアレイで網羅的に検出する。

### 2) ウォルフラム症候群モデルマウスを用いた治療法開発

ウォルフラム症候群モデルマウスであるWFS1欠損マウスに小胞体ストレスがさらに加わりやすい肥満の遺伝子を加えた *wfs1*欠損yellow agoutiマウスを作出し、膵β細胞保護が報告されている、糖尿病治療薬ピオグリタゾン投与し、血糖、インスリン、膵島などを検討する。

### 3) 臓器間代謝情報ネットワーク機構を用いた治療

肥満糖尿病のモデルマウスを用い、アデノウィルスを用いて一つの臓器に遺伝子導入を行い、その臓器でのみ後天的に急性に代謝を変化させ、全身の糖・エネルギー代謝や他臓器・組織での代謝状態を検討する。

### 4) 易糖尿病発症者簡易抽出システムの確立のための候補遺伝子とそのSNP同定

小胞体ストレスに対し遺伝的脆弱性を有する者は若年で糖尿病を発症する可能性が高い。そこで、一般の糖尿病よりも遺伝因子が濃厚な35歳以下発症2型糖尿病患者を臨床データも含めて収集し解析する。

## 倫理面への配慮

DNA検体はインフォームド Consentのもとに取得され、非連結匿名化されている。WFS1ノックアウトマウス作製ならびにWFS1機本研究の中のヒト遺伝子解析研究は、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に準拠して計画、実施され、東北大学医学部倫理委員会承認されている(承認番号2003-265 審査結果通知書添付)。

すなわち、人権擁護に十分な配慮がなされており、機能解析のための組替えDNA実験は東北大学倫理委員会にて承認されている。また、マウス動物実験については、麻酔薬を用いるなど疼痛除去に充分配慮している。

## C. 研究結果

### 慢性小胞体ストレス下での4EBP1の膵β細胞保護作用を発見

WFS1欠損マウスの膵β細胞では、翻訳抑制因子としてよく知られているeukaryotic initiation factor 4E (eIF4E)-binding protein (4E-BPs)のアイソフォームである4E-BP1の発現が著増しており、これが小胞体ストレスで増加する転写因子ATF4の制御下にあることを見出した。さらに、膵β細胞腫瘍を発症するIT-6マウスと4E-BP1欠損マウスとの交配により、4E-BP1欠損β細胞株を樹立し検討すると、4E-BP1欠損β細胞は小胞体ストレス惹起刺激下での生存能が低下しており、これは小胞体ストレス下での翻訳抑制が十分でなく、特にアポトーシスを誘導するCHOPの発現が小胞体ストレス暴露の後期に野生型β細胞と比較し増加しており、生存能低下の一因と考えられた。さらに、WFS1欠損マウスあるいはAkitaマウスと4E-BP1欠損マウスを交配すると、WFS1欠損マウスあるいはAkitaマウスそのものよりβ細胞の減少が促進され、血糖も悪化することが認められた。以上より、4E-BP1は、小胞体ストレス下で発現が誘導され、膵β細胞を慢性小胞体ストレスから保護する役割を担うと考えられた。

### 臓器間代謝情報ネットワーク: 自律神経系による全身のエネルギー代謝恒常性維持機構を解明

肝臓へのPPAR $\gamma$ 2発現にて、基礎代謝の増加、末梢インスリン抵抗性の改善、耐糖能の改善を認めた。神経切断などの検討により、この効果は、迷走神経肝枝の求心路、および、交感神経遠心路を介するものであることが明らかとなった。また、この経路の活性化により、肥満を改善させると、膵β細胞からの糖反応性インスリン分泌の改善が観察され、膵β細胞における小胞体ストレスを減少させる手法としての可能性が示唆された。さらに、肝臓へのPPAR $\gamma$ 2発現では、血圧の上昇を認め、交感神経活性化を介したものであることが確認された。そこで、RNA干渉の手法を用いて肥満モデルマウスの肝臓におけるPPAR $\gamma$ 発現を抑制すると、肥満に伴う血圧上昇が抑制され、肝PPAR $\gamma$ 発現に由来する迷走神経求心路・交感神経遠心路を介するシグナルは、肥満の際の高血圧発症に大きく関与していることが明らかとなった。

### ウォルフラム症候群モデルマウスの膵β細胞アポトーシスを防ぐ: ピオグリタゾンにより発現誘導される分子Adm

インスリン抵抗性改善薬であるピオグリタゾンの投与により、*wfs1*欠損agoutiマウスでのβ細胞のアポトーシスは回避され、糖尿病発症はほぼ完全に抑制された。このβ細胞保護効果をマイクロアレイによって網羅的に解析し、

Admを見出した。Admは種々の組織・細胞で発現されることが知られているが、 $\beta$ 細胞での発現は我々の知る限り報告がない。MIN6細胞ではピオグリタゾンにより、Admの発現は約2倍に増加した。

#### 膵 $\beta$ 細胞増殖に関与するproryl isomerase I (Pin1)

IRS-1を含むタンパク複合体中にproryl isomerase I (Pin1)が同定され、IRS-1をアルカリフォスファターゼ処理すると結合能が失われることや、Pin1内のWWドメインが結合に関与することが明らかとなった。さらに重要なことに、高脂肪食を2週間負荷したマウスでは、肝臓と筋肉におけるPin1の発現量が3-10倍に増加していた。既知の結合タンパクであるcyclin DやRARと共に、 $\beta$ 細胞において多くの遺伝子の転写制御に関与することが推測される。

#### 易糖尿病発症者簡易抽出システムの確立への糖尿病関連遺伝子SNPの検出

35歳以下発症2型糖尿病患者100例、スーパーノーマル100例でゲノムワイドのSNP解析を(株)ヒュービットジェノミクスに委託して実施した。

#### D.E. 考察および結論

なぜ糖尿病は増加しているのか。現代の飽食と運動不足はインスリン分泌を強要する。この環境下で膵 $\beta$ 細胞の小胞体ストレスが過大となると細胞はアポトーシスに陥る。この $\beta$ 細胞数減少に着目することが、最近の糖尿病増加を解く鍵であり、新規治療法につながると考える。

2007年度の研究で、翻訳抑制因子4EBP1が、慢性小胞体ストレス下で翻訳を抑制して、膵 $\beta$ 細胞を保護することを世界で初めて見出した。4EBP1がないと膵 $\beta$ 細胞は小胞体ストレス下でアポトーシスに陥り、糖尿病を惹起する。たとえてみれば、膵 $\beta$ 細胞は一生インスリン分泌を続けるという「生涯マラソン」を走っているようなものであり、途中で100メートルダッシュをしては途中で疲れてゴールにたどり着かない(糖尿病になる)。4EBP1は、いわば無理しすぎないで走り続けるように指令を出すペースメーカーの役割を果たしていると考えられる。小胞体ストレス下でも膵 $\beta$ 細胞数を保持(増加)できる、従来の薬剤にはない全く新しい糖尿病治療薬、膵 $\beta$ 細胞を増加させる新規治療法の開発につながることが期待できる。

易糖尿病発症者を検出するSNPの同定は、易糖尿病発症者(=小胞体ストレス脆弱者)を判別できるSNPパネルを確立し、肥満と運動不足(=  $\beta$ 細胞の小胞体ストレス増加)が糖尿病をきたしやすい体質者を簡易に抽出するシステムを開発する。さらにこれを用いて生活指導を強化し発症を予防することができる。

また、我々は神経系による臓器間ネットワークにより、各臓器の代謝が調節されていることを発見したが、この機構を利用して膵 $\beta$ 細胞を増加させる、きわめて斬新な治

療法開発が視野に入ってきた。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- Katagiri H, Yamada T, Oka Y. Adiposity and cardiovascular disorders -disturbance of the regulatory system consisting of humoral and neuronal signals. *Circ Res*. 101(1): 27-39, 2007
- Yoshizumi S, Suzuki S, Hirai M, Hinokio Y, Yamada T, Yamada T, Tsunoda U, Aburatani H, Yamaguchi K, Miyagi T, Oka Y. Increased hepatic expression of ganglioside-specific sialidase, NEU3, improves insulin sensitivity and glucose tolerance in mice. *Metabolism* 56 (3): 420-9, 2007
- Awata S, Bech P, Yoshida S, Hirai M, Suzuki S, Yamashita M, Ohara A, Hinokio Y, Matsuoka H, Oka Y. Reliability and validity of the Japanese version of the world health organization-five well-being index in the context of detecting depression in diabetic patients. *Psychiatry Clin Neurosci*. 61 (1): 112-119, 2007
- Nonogaki K, Nozue K, Kuboki T, Oka Y. Milnacipran, a serotonin and noradrenalin reuptake inhibitor, induces appetite suppressing effects without inducing hypothalamic stress responses in mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 292(5): R1775-81, 2007
- Hasegawa Y, Ogihara T, Yamada T, Ishigaki Y, Imai J, Uno K, Gao J, Kaneko K, Ishihara H, Sasano H, Nakauchi H, Oka Y, Katagiri H. Bone marrow (BM) transplantation promotes  $\beta$  cell regeneration after acute injury through BM cell mobilization. *Endocrinology* 148(5): 2006-15, 2007
- Ono H, Sakoda H, Fujishiro M, Anai M, Kushiyaama A, Fukushima Y, Katagiri H, Ogihara T, Oka Y, Kamata H, Horike N, Uchijima Y, Kurihara H, Asano T. Carboxyl-terminal modulator protein (CTMP) induces akt phosphorylation and activation, thereby enhancing anti-apoptotic, glycogen synthetic and glucose uptake pathways. *Am J Physiol Cell Physiol*. 293(5): C1576-85. Epub 2007
- Nonogaki K, Nozue K, Oka Y. Social isolation affects the development of obesity and type 2 diabetes in mice. *Endocrinology* 148(10): 4658-66. Epub 2007
- Yamada T, Imai J, Ishigaki Y, Hinokio Y, Oka Y, Katagiri H. Possible relevance of HLA-DRB1\*0403 haplotype in insulin autoimmune syndrome induced

by  $\alpha$ -lipoic acid, used as a dietary supplement.

Diabetes Care 30(12): e131, 2007

- Okimoto H, Ishigaki Y, Koiwa Y, Hinokio Y, Ogihara T, Suzuki S, Katagiri H, Ohkubo T, Hasegawa H, Kanai H, Oka Y. A novel method for evaluating human carotid artery elasticity: possible detection of early stage atherosclerosis in subjects with type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 196(1): 391-7, 2008 (Epub 2006 Dec 18.)
- Yamada T, Oka Y, Katagiri H. Inter-organ metabolic communication involved in energy homeostasis: Potential therapeutic targets for obesity and metabolic syndrome. *Pharmacol Ther.* 117(1):188-98, 2008
- Yamaguchi S, Ishihara H, Yamada T, Tamura A, Usui M, Tominaga R, Munakata Y, Satake C, Katagiri H, Tashiro F, Aburatani H, Tsukiyama-Kohara K, Miyazaki J, Sonenberg N, and Oka Y. ATF4-mediated induction of 4E-BP1 contributes to pancreatic  $\beta$  cell survival under endoplasmic reticulum stress. *Cell Metabolism* 7(3):269-76, 2008
- Kato T, Ishiwata M, Yamada K, Kasahara T, Kakiuchi C, Iwamoto K, Kawamura K, Ishihara H, Oka Y. Behavioral and gene expression analyses of Wfs1 knockout mice as a possible animal model of mood disorder. *Neuroscience Research*, in press

## 2. 学会発表

第11回シンポジウム糖尿病 4月14日 東京

- 膵 $\beta$ 細胞特異的小胞体ストレス応答機構の検討  
石原 寿光、山口 賢、佐竹 千尋、薄井 正寛、富永 竜、岡 芳知

第50回日本糖尿病学会年次学術集会 5月24-26日 仙台

- (会長講演)糖尿病の統合的理解を求めて  
岡 芳知
- インスリン需要増大時の膵 $\beta$ 細胞小胞体ストレスと細胞死 -wfs1 欠損マウスをモデルとした検討 -  
谷澤 幸生、秋山 優、幡中 雅行、植田 浩平、宮崎 睦子、岡 芳知
- 肥満コントロールの重み付け  
石垣 泰、沖本 久志、檜尾 好徳、片桐 秀樹、岡 芳知
- 自律神経を介する協調的エネルギー代謝調節機構  
山田 哲也、片桐 秀樹、岡 芳知
- 膵島移植の現状と展望  
後藤 昌史、檜尾 好徳、小川 則彦、山田 高弘、高橋 英幸、斉藤 之彦、石原 寿光、関口 悟、藤盛 啓成、黒川 良望、玉井 信、岡 芳知、里見 進
- 日本人において耐糖能を規定する要因はインスリン

分泌能である:300例を超える Bergman のミニマルモデル法の検討

鈴木 慎二、赤井 裕輝、早坂 恭子、岡 芳知

- 血管壁弾性特性に及ぼす各種薬剤の影響についての検討  
沖本 久志、石垣 泰、鶴田 藍、小岩 喜朗、長谷川 英之、加藤 真、山田 哲也、石原 寿光、檜尾 好徳、荻原 健英、鈴木 進、片桐 秀樹、金井 浩、岡 芳知
- 尿中ケトン体の出現と代謝パラメーターの検討  
大久 典子、石垣 泰、松木 寮子、鈴木 ひろみ、小澤 鹿子、大久 良晴、片桐 秀樹、賀来 満夫、岡 芳知
- 肝臓における ERK 経路活性化は膵島再生を促進する  
今井 淳太、片桐 秀樹、荻原 健英、石垣 泰、山田 哲也、宇野 健司、長谷川 豊、高 俊弘、金子慶三、鈴木 俊伸、斉藤 徳郎、檜尾 好徳、岡 芳知
- 翻訳抑制因子 4E-BP1 の欠損は、小胞体ストレスによる細胞障害を悪化させる  
山口 賢、石原 寿光、田村 明、山田 高弘、佐竹 千尋、薄井 正寛、富永 竜、檜尾 好徳、荻原 健英、鈴木 進、片桐 秀樹、岡 芳知
- 膵 $\beta$ 細胞における小胞体ストレスによる翻訳抑制因子 4E-BP1 発現誘導機構  
薄井 正寛、佐竹 千尋、石原 寿光、田村 明、山田 高弘、山口 賢、富永 竜、宗像 佑一郎、檜尾 好徳、荻原 健英、鈴木 進、片桐 秀樹、岡 芳知
- NOD マウス樹状細胞における NF- $\kappa$ B components の発現低下は上流の転写因子 GATA-2 の発現低下を伴っている  
高橋 和真、岡 芳知、佐藤 謙
- 動脈硬化に対する CHOP の役割についての検討  
高 俊弘、片桐 秀樹、石垣 泰、石原 寿光、山田 哲也、荻原 健英、今井 淳太、宇野 健司、長谷川 豊、金子 慶三、鈴木 俊伸、斉藤 徳郎、檜尾 好徳、森 正敬、岡 芳知
- GPI アンカー蛋白 p69 は lipid raft microdomain において GLUT4 依存性の糖取り込みを調節する  
田口 昭彦、江本 政広、福田 尚文、中森 芳宜、宮本 幸子、田部 勝也、岡 芳知、奥屋 茂、谷澤 幸生
- GLUT4 蛋白と結合する ANK 構造蛋白 p61 は、インスリン依存性糖取り込みを促進する  
奥屋 茂、田口 昭彦、江本 政広、村木 和彦、岡 芳知、谷澤 幸生

- 摂食障害におけるセロトニンシグナルの多様性と変調  
野々垣 勝則、野末 香奈、岡 芳知
- チアゾリジン誘導体による肝の PPAR $\gamma$ -自律神経系を介した代謝制御  
宇野 健司、片桐 秀樹、山田 哲也、荻原 健英、石垣 泰、今井 淳太、長谷川 豊、高 俊弘、金子 慶三、鈴木 俊伸、斉藤 徳郎、檜尾 好徳、鈴木 進、岡 芳知
- 血管内皮細胞における NF- $\kappa$ B の役割: 血管内皮特異的 dominant-negative I $\kappa$ B トランスジェニックマウスを用いた解析  
長谷川 豊、片桐 秀樹、荻原 健英、下澤 龍雄、斉藤 徳郎、石垣 泰、山田 哲也、今井 淳太、宇野 健司、高 俊弘、金子 慶三、檜尾 好徳、浅野 知一郎、藤田 敏郎、岡 芳知
- 動脈硬化惹起性リポタンパク除去による動脈硬化治療の試み  
石垣 泰、片桐 秀樹、高 俊弘、山田 哲也、荻原 健英、今井 淳太、宇野 健司、長谷川 豊、金子 慶三、鈴木 俊伸、斉藤 徳郎、檜尾 好徳、鈴木 進、沢村 達也、岡 芳知
- 糖尿病患者と健常者における血管弾性特性  
鴫田 藍、石垣 泰、沖本 久志、佐藤 肇、小岩 嘉郎、長谷川 英之、加藤 真、山田 哲也、石原 寿光、檜尾 好徳、荻原 健英、鈴木 進、片桐 秀樹、西田 幸二、金井 浩、岡 芳知
- The translational suppressor 4E-BP1 is a critical component of the ER stress response involved in pancreatic  $\beta$  cell survival. (英語セッション)  
Hisamitsu Ishihara, Suguru Yamaguchi, Yoshitomo Oka

第80回日本内分泌学会学術総会 6月14日-16日 東京

- Social isolation と加齢によるエネルギー代謝の変化  
野々垣 勝則、岡 芳知

第67回アメリカ糖尿病学会 6月22日-26日 シカゴ

- Activation of hepatic ERK pathway promotes pancreatic beta cell proliferation  
Junta Imai, Hideki Katagiri, Toshinobu Suzuki, Yoshitomo Oka

第39回日本動脈硬化学会総会 7月13日-14日 大阪

- 反応性内膜肥厚に対する CHOP の役割の検討  
石垣 泰、片桐秀樹、高 俊弘、石原寿光、山田哲也、今井淳太、宇野健司、長谷川豊、森 正敬、岡 芳知
- 粥状動脈硬化における CHOP の役割の検討  
高 俊弘、片桐秀樹、石垣 泰、石原寿光、山田哲也、今井淳太、宇野健司、長谷川豊、森 正敬、岡 芳知

第44回日本臨床分子医学会学術集会 7月20日-21日 和歌山

- 血管内皮細胞における NF- $\kappa$ B シグナルが全身代謝へ与える役割の検討  
長谷川 豊、片桐 秀樹、荻原 健英、下澤 達雄、齋藤 徳郎、石垣 泰、山田 哲也、今井 淳太、宇野 健司、高 俊弘、金子 慶三、檜尾 好徳、藤田 敏郎、岡 芳知

National University of Singapore -

Tohoku University/Centre of Excellence Joint Symposium 9月5日-9月7日 シンガポール

- (Session) Metabolic information highways among organs including brain.  
Yoshitomo Oka
- Activation of hepatic ERK pathway promotes pancreatic beta cell proliferation  
Junta Imai, Hideki Katagiri, Yoshitomo Oka

Congress of the international society for autonomic neuroscience 10月5日-8日 京都

- Neuronal pathway from the liver modulates energy expenditure and systemic insulin sensitivity  
Tetsuya Yamada, Hideki Katagiri, Kenji Uno, Yoshitomo Oka

第28回日本肥満学会 10月19-20日 東京

- 頸動脈血管弾性からみた肥満と動脈硬化の関係  
石垣 泰、沖本 久志、鴫田 藍、野々垣 勝則、平井 完史、長谷川 英之、小岩 善郎、加藤 真、片桐 秀樹、金井 浩、岡 芳知

第22回日本糖尿病合併症学会 10月26日-27日 茨城

- 糖尿病患者と健常者における頸動脈血管壁弾性特性の検討  
石垣 泰、片桐 秀樹、鴫田 藍、沖本 久志、長谷川 英之、小岩 喜郎、加藤 信、山田 哲也、石原 寿光、檜尾 好徳、金井 浩、岡 芳知

H. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他(研究に関する新聞記事等)  
2007年6月29日 新聞報道  
毎日新聞「なくそう 減らそう 糖尿病」-生活習慣改善から-基調講演 I  
2008年2月18日・22日 テレビ報道  
テレビ朝日系「東北大学の世紀-糖尿病に挑む-

膵β細胞保持機構からの治療法開発に関する研究  
分担研究者 片桐 秀樹 東北大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨

肥満者では、インスリン抵抗性が生じるが、それに対抗してインスリンが過度に分泌されることにより糖尿病の発症を防いでいる。しかし、膵β細胞でのインスリン過分泌は、インスリン蛋白の過度の生合成などによる小胞体ストレスの増加を引き起こし、この状態が続くと小胞体ストレスに伴う膵β細胞のアポトーシスが惹起され、最終的には、インスリン分泌の低下とともに糖尿病発症につながる。そこで我々は、この膵β細胞における小胞体ストレスの増加の原因となる肥満の病態を明らかとするとともに、新規治療法を開発することを目指した研究を展開している。我々は、食欲を制御する脂肪組織からの求心性神経シグナル、および、エネルギー消費を亢進させる肝臓からの求心性神経シグナルを発見し、自律神経系による全身のエネルギー代謝恒常性維持機構を解明した。さらに、肝臓からの神経経路は、メタボリックシンドロームの際の高血圧の発症にも関与していることを明らかにした。

自律神経求心路が全身での代謝調節に関与するという事は、末梢の代謝情報が、この経路を通じて脳に伝えられ、脳がそれを統御して恒常性を維持するための指令を全身に送っていることを意味する。つまり、代謝調節における管制塔としての中樞神経系の役割を示したものであるといえる。また、このシステムの活性化により、膵β細胞からの糖反応性インスリン分泌の改善も認めており、臓器間ネットワークを利用した、膵β細胞での小胞体ストレス軽減も可能となる。精神的ストレスや鬱などの精神疾患による代謝の乱れと、肥満・糖尿病、メタボリックシンドロームとの関連が指摘される中、これらの経路の更なる解明は、過栄養時代である現代に急増する糖尿病の病態を総合的に解明し、全く新しい視点からの治療法開発につながるものと期待される。

A. 研究目的

近年、過食などの生活習慣による肥満に基づく糖尿病患者の増加が社会的な問題になっている。肥満になると、インスリン抵抗性が惹起されるが、それに応じ、血糖値を維持するために、膵β細胞はインスリンの分泌量を増加させる。この代償機構が十分に働けば、糖尿病の発症は予防できる。しかし、膵β細胞でのインスリン過分泌自体、インスリン蛋白の過度の生合成などによる膵β細胞内での小胞体ストレスの増加を引き起こす。小胞体ストレスに対する応答については、最近解明が進みつつあるが、過度の小胞体ストレスが長期にわたり持続すると、細胞自体をアポトーシスする機序が働くようになり、膵β細胞が減少することになる。これがさらに残った膵β細胞への負担増加となり、膵β細胞の数の減少とそれに伴うインスリン分泌低下を引き起こし、糖尿病発症につながるものと考えられている。そこで我々は、この膵β細胞における小胞体ストレスの増加の原因となる肥満の病態を明らかとするとし、肥満を改善することで膵β細胞の小胞体ストレスを減弱させ、インスリン分泌を回復させることによる新規治療法を開発を目指す。

B. 研究方法

1. モデルマウスを用い、アデノウィルスを用いて一つの臓器に遺伝子導入を行い、その臓器でのみ後天的に

急性に代謝を変化させる。その結果、全身の糖・エネルギー代謝や他臓器・組織での代謝状態を検討する。具体的には、アデノウィルスを静注し、肝臓選択的に、肥満・脂肪肝の際に発現誘導あるいはシグナル増強されている分子を発現させる。食事量・体重・酸素消費量・血圧・糖負荷試験・インスリン負荷試験・グルコースクランプ・各組織での遺伝子発現などを検討することにより、肝以外の臓器・組織の糖・脂質・エネルギー代謝、インスリン抵抗性や膵β細胞からのインスリン分泌に及ぼす影響を検討する。さらに、神経切断やパラビオーシスなどの操作を行い、他臓器への代謝効果に及ぼす影響を検討することで、この遠隔効果の機序を解明する。

2. 倫理面への配慮

本年度の研究は細胞及び動物モデルを用いた解析に限られているため、倫理面への配慮が必要な事項に該当しない。動物実験は東北大学動物実験指針に基づいて実施し、東北大学大学院医学系研究科動物実験委員会の承認を受けている。

C. 研究結果

脂肪組織へのUCP1遺伝子導入により、脳視床下部におけるレプチン抵抗性が改善され、肥満の際の過食の抑制が認められた。この機序に、脂肪組織からの求心性

神経が関与していることを明らかとなった。また、肝臓へのPPAR $\gamma$ 2発現にて、基礎代謝の増加、末梢インスリン抵抗性の改善、耐糖能の改善を認めた。神経切断などの検討により、この効果は、迷走神経肝枝の求心路、および、交感神経遠心路を介するものであることが明らかとなった。また、この経路の活性化により、肥満を改善させると、膵 $\beta$ 細胞からの糖反応性インスリン分泌の改善が観察され、膵 $\beta$ 細胞における小胞体ストレスを減少させる手法としての可能性が示唆された。

さらに、肝臓へのPPAR $\gamma$ 2発現では、血圧の上昇を認め、 $\beta$ 受容体欠損マウスを用いた検討から、この血圧上昇は交感神経活性化を介したものであることが確認された。そこで、RNA干渉の手法を用いて肥満モデルマウスの肝臓におけるPPAR $\gamma$ 発現を抑制すると、肥満に伴う血圧上昇が抑制された。さらに、肥満モデルマウスやラットの迷走神経肝枝を切断することで、肥満による血圧上昇が抑制され、肝PPAR $\gamma$ 発現に由来する迷走神経求心路・交感神経遠心路を介するシグナルは、肥満の際の高血圧発症に大きく関与していることが明らかとなった。

摂食・エネルギー消費といった全身のエネルギー代謝を調節する機構として、自律神経系、特に、求心路を介した末梢からのシグナルが重要であることが明らかとなった。求心性神経シグナルは中枢神経系に伝えられていることから、このことは、とりもなおさず脳が末梢各臓器の代謝状況を逐一把握し、全身の代謝を協調的に調節する指令を発していることを意味する。これまでは、アディポカインやインスリンなどのホルモン系が臓器間の代謝情報の中心と考えられてきたが、これらの成果は、末梢・中枢神経系を介したネットワークが、代謝調節には重要であることを示したものである(Endocr J 2007)。これらをもとにして、我々は、脳が全身の代謝恒常性を保つための管制塔の役割を果たしているという仮説を提唱した(Circ Res 2007)。この機構を活性化することにより、肥満・糖尿病を改善させる新たな治療法が開発できるものと考えられる。特に、この機構の活性化は、膵 $\beta$ 細胞からの糖反応性インスリン分泌の改善を惹起することを観察しており、膵 $\beta$ 細胞における小胞体ストレス消去にもつながるものと推察できる。この分子機構の解明は新たな創薬につながると考えられ、また、機器装着による神経活性化とあわせ、まったく新しい視点からの、過栄養時代の糖尿病に対する治療法の開発につながることが期待できる(Pharmacol Ther 2008)。

さらに、今回の我々の研究により、この自律神経ネットワークの活性化は、肥満の際の血圧上昇につながることが明らかとなった。肝PPAR $\gamma$ 発現に起因し高血圧を発症するこのメカニズムは、まさに、メタボリックシンドロームの中心病態である高血圧の発症機序を解明するものであり、治療法開発の意味からも重要なものであると考えられる。メタボリックシンドロームの病態が、まさにメタボリズム(代謝)の変化に起因することを示した点でも興味深いと思われる。精神的ストレスや鬱などの精神疾患による代

謝の乱れと、肥満・糖尿病、メタボリックシンドロームとの関連が指摘される中、これらの経路の更なる解明は、過栄養時代である現代に急増する・メタボリックシンドロームの病態を総合的に解明し、それにもとづく合理的な治療法が開発されていくことにつながるものと期待される。

#### D.E. 考察および結論

我々は、自律神経系が臓器間の代謝情報のやり取りに大いにかかわり、その調節の一翼を担っていること、また、これがメタボリックシンドロームの病態に深くかかわっていること、さらにこの機構をmodulateすることで、肥満・糖尿病を改善させることができることを示した。更なる研究により、新たな視点からの肥満・糖尿病治療法の開発・実践につなげていきたい。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- Hasegawa Y, Ogihara T, Yamada T, Ishigaki Y, Imai J, Uno K, Gao J, Kaneko K, Ishihara H, Sasano H, Nakauchi H, Oka Y, Katagiri H. (2007) Bone Marrow (BM) Transplantation Promotes Beta Cell Regeneration after Acute Injury through BM Cell Mobilization. *Endocrinology* 148: 2006-15.
- Yamada T, Katagiri H. (2007) Avenues of Communication between the Brain and Tissues/Organs Involved in Energy Homeostasis. *Endocrine J*. 54: 497-505.
- Katagiri H, Yamada T, Oka Y. (2007) Adiposity and Cardiovascular Disorders: Disturbance of the Regulatory System Consisting of Humoral and Neuronal Signals- *Circ Res*. 101: 27-39.
- Ono H, Sakoda H, Fujishiro M, Anai M, Kushiya A, Fukushima Y, Katagiri H, Ogihara T, Oka Y, Kamata H, Horike N, Uchijima Y, Kurihara H, Asano T. (2007) Carboxyl-terminal modulator protein (CTMP) induces AKT activation, thereby enhancing anti-apoptotic, glycogen synthetic and glucose uptake pathways. *Am J Physiol Cell Physiol*. 293:C1576-85.
- Yamada T, Imai J, Ishigaki Y, Hinokio Y, Oka Y, Katagiri H. (2007) Possible relevance of HLA-DRB1\*0403 haplotype in insulin autoimmune syndrome induced by  $\alpha$ -lipoic acid, used as a dietary supplement. *Diabetes Care* 30: e131.
- Yamada T, Oka Y, Katagiri H. (2008) Communications between the Brain and Peripheral Tissues/Organs Involved in Energy Homeostasis -Potential Therapeutic Targets for Obesity and Metabolic syndrome- *Pharmacol Ther*. 117(1):188-98.
- Okimoto H, Ishigaki Y, Koiwa Y, Hinokio Y, Ogihara T, Suzuki S, Katagiri H, Ohkubo T, Hasegawa H, Kanai H, Oka Y. (2008) A novel method for evaluating human

carotid artery elasticity: possible detection of early stage atherosclerosis in subjects with type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 196: 391-7

- Yamaguchi S, Ishihara H, Yamada T, Tamura A, Usui M, Tominaga R, Munakata Y, Satake C, Katagiri H, Tashiro F, Aburatani H, Tsukiyama-Kohara K, Miyazaki J, Sonenberg N, Oka Y (2008) ATF4-Mediated Induction of 4E-BP1 Contributes to Pancreatic Beta Cell Survival under Endoplasmic Reticulum Stress. *Cell Metab.* 7 (3) :269-76
- Nedachi T, Kadotani A, Ariga M, Katagiri H, Kanzaki M (2008) Ambient Glucose Levels Qualify the Potency of Insulin Myogenic Actions by Regulating SIRT1 and FoxO3a in C2C12 myocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* in press
- Ariga M, Nedachi T, Katagiri H, Kanzaki M (2008) Functional role of sortilin in myogenesis and development of insulin-responsive glucose transport system in C2C12 myocytes. *J Biol Chem* in press

## 2. 学会発表(シンポジウムなど)

- 片桐秀樹 シンポジウム 生体内での膵β細胞再生を目指した治療法開発 第46回日本生体医工学会 2007年4月25日 仙台
- 片桐秀樹 学会賞(リリー賞)受賞講演 自律神経系を介した臓器間ネットワークによる糖・エネルギー代謝の協調的調節機構 第50回日本糖尿病学会 2007年5月24-26日 仙台
- 石垣泰、沖本久志、檜尾好徳、片桐秀樹、岡芳知 シンポジウム6 肥満コントロールの重み付け 第50回日本糖尿病学会 2007年5月24-26日 仙台
- 山田哲也、片桐秀樹、岡芳知 シンポジウム9 自律神経系を介する協調的エネルギー代謝調節機構 第50回日本糖尿病学会 2007年5月24-26日 仙台
- 片桐秀樹 シンポジウム「Metabolic Information Highway～糖尿病・メタボリックシンドローム研究の新展開～」東北バイオサイエンスシンポジウム2007年6月4日 仙台
- 片桐秀樹 研究奨励賞受賞講演 臓器間連関によるインスリン抵抗性改善機構 第80回日本内分泌学会学術総会 2007年6月14-16日 東京
- 片桐秀樹 教育講演 Metabolic Information Highway～メタボリックシンドローム研究の新展開～ 第62回日本体医学会大会 2007年9月15日 秋田
- 片桐秀樹 シンポジウム3 臓器・細胞間クロストークによるエネルギー代謝制御 自律神経を介した臓器(組織)間代謝情報ネットワーク 第28回日本肥満学会 2007年10月19-20日 東京
- 片桐秀樹 特別講演 糖尿病・メタボリックシンドローム研究の新展開 山梨科学アカデミー交流大会 2007年11月26日 山梨

- 片桐秀樹 シンポジウム メタボリックシンドローム-臓器間連関と分子メカニズム- 2S4-2 自律神経系による臓器間代謝情報ネットワーク機構 BMB2007 (第30回日本分子生物学会年会 第80回日本生化学会 合同大会) 2007年12月12日 東京
- 片桐秀樹 シンポジウム 肝からの神経シグナルによる臓器間代謝情報ネットワーク 第22回日本糖尿病・肥満動物学会 2008年2月8日 東京
- 片桐秀樹 レクチャー 糖尿病診療の将来 エネルギー代謝維持機構を標的とした治療開発 第42回糖尿病学の進歩 2008年2月16日 高松
- 片桐秀樹 特別講演 ランチョンセミナー Metabolic Information Highway～肥満・糖尿病研究の新展開～ 第7回日本内分泌学会東海支部学術集会2008年2月23日 名古屋
- 片桐秀樹 自律神経を介した臓器間代謝情報ネットワーク 自然科学研究機構生理学研究所研究会「中枢・末梢臓器間連携による摂食、エネルギー代謝調節」自律神経を介した臓器間代謝情報ネットワーク 2008年2月28-29日 岡崎
- Yamada T., Katagiri H. Autonomic nerve circuits modulate energy and glucose metabolism. Okazaki Symposium 2007 on Obesity and Diabetes, Apr 14-15, 2007 Okazaki, Japan
- Ariga M, Nedachi T, Katagiri H, Kanzaki M. Functional Role of Sortilin in Myogenesis and the Development of Insulin-Responsive Glucose Transport System in C2C12 Myocytes. American Diabetes Association, 67th Scientific Sessions, June 22-26, 2007 Chicago, IL, USA
- Imai J, Katagiri H, Suzuki T, Oka Y. Activation of Hepatic ERK Pathway Promotes Pancreatic Beta Cell Proliferation. American Diabetes Association, 67th Scientific Sessions, June 22-26, 2007 Chicago, IL, USA
- Katagiri H. Inter-organ communication via autonomic nerve circuits modulates systemic energy and glucose metabolism. The 25th JES Summer Seminar on Endocrinology & Metabolism, July 17-18, 2007 Awaji, Japan
- Imai J, Katagiri H, Oka Y. Activation of Hepatic ERK Pathway Promotes Pancreatic Beta Cell Proliferation. Office of Life Sciences/National University of Singapore - Tohoku University/Centre of Excellence Joint Symposium, Sep 5-7, 2007 Singapore
- Yamada T, Katagiri H, Uno K, Oka Y. Neuronal pathway from the liver modulates energy expenditure and systemic insulin sensitivity. Congress of the International Society for Autonomic Neuroscience, Oct 5-8, 2007 Kyoto, Japan

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他(研究に関する新聞記事等)

2008年2月18日・22日テレビ報道

テレビ朝日系「東北大学の新世紀・糖尿病に挑む」で紹介

遺伝子解析・ウオルフラム症候群の治療法開発に関する研究  
分担研究者 谷澤 幸生 山口大学大学院医学研究科 教授

研究要旨

Wolfram症候群は若年発症のインスリン欠乏型糖尿病と視神経萎縮を主徴とする劣性遺伝性疾患である。原因遺伝子 *WFS1* によりコードされる蛋白は小胞体膜に存在し、その機能は、細胞内カルシウムホメオスターシス、小胞体ストレス応答に関連する。*WFS1* を欠損する  $\beta$  細胞は小胞体ストレスに脆弱であることが明らかになっている。我々はWolfram症候群のモデルである *wfs1* 欠損マウスに *A<sup>+</sup>* 遺伝子を導入することにより軽度の肥満・インスリン抵抗性を賦与すると、 $\beta$  細胞の小胞体ストレスが亢進し、 $\beta$  細胞死が著明に加速されることを見いだしている。さらに、この  $\beta$  細胞死はpioglitazoneの投与により著明に抑制される。このpioglitazoneの  $\beta$  細胞保護メカニズムを解明するため、遺伝子発現の側面から検討を行った。*wfs1<sup>-/-</sup> A<sup>+</sup>/a*、*wfs1<sup>-/-</sup> A<sup>-</sup>/a*及びそれぞれにpioglitazoneを投与したマウスのラ氏島における遺伝子発現をmicroarrayにより解析することにより、 $\beta$  細胞でpioglitazoneにより発現誘導される分子Admを同定した。AdmはMIN6細胞においてもpioglitazoneで発現が誘導された。また、プロモーターにはPPAR  $\gamma$  結合部位が存在し、実際に同部位にPPAR  $\gamma$  がpioglitazone依存性に結合することがChIP法により示された。Admは酸化ストレスを抑制することで組織保護に働くことが報告されており、PPAR  $\gamma$  による  $\beta$  細胞保護作用の一部を説明しうるものとして期待される。この分子の  $\beta$  細胞における役割を解明すると同時に、他の候補分子についても検討を進める予定である。

*wfs1* の欠損による視神経萎縮の機序を解明する手がかりとして、視覚系における *wfs1* の発現を詳細に検討した。*wfs1* の発現は網膜から1次、2次視覚野にわたり、視覚系に広く分布していた。*wfs1* の視覚系における役割、視神経萎縮の発症機序解明の手がかりとしたい。

A. 研究目的

Wolfram 症候群は10歳前後で発症するインスリン欠乏型糖尿病と視神経萎縮を主徴とする劣性遺伝性疾患である。患者ラ氏島では、 $\beta$  細胞が選択的に消失する。我々は、原因遺伝子 *WFS1* を同定した。これまでの研究で、*WFS1* によりコードされる蛋白は小胞体膜に存在し、*WFS1* を欠損する  $\beta$  細胞は小胞体ストレスに脆弱であることが明らかになっている。*WFS1* 蛋白は細胞内カルシウムホメオスターシスに関与する可能性が示唆されているが、その機能の詳細は依然明らかでない。一方、2型糖尿病はインスリン分泌低下とインスリン抵抗性の双方の要因が重複することによって発症する。最近、糖尿病の発症にはインスリン抵抗性が重要であり、発症後の進行には  $\beta$  細胞機能の低下がより重要であるとの考えが一般になっている。すなわち、2型糖尿病は、遺伝、生活習慣や加齢等の要因によりインスリン抵抗性が増強し、もともと発症素因としてもつインスリン分泌低下のためにインスリン抵抗性を代償できないときに発症する。発症後、インスリン抵抗性は大きく変化しないが、インスリン分泌能は緩徐にはあるが進行性に低下し、糖尿病が「悪化」すると考えられている。この2型糖尿病患者に見られる、完全な廃絶には至らないが進行性のインスリン分泌低下には、「糖毒

性」や「脂肪毒性」に加えて、あるいは、これらが生じるメカニズムとして酸化ストレスや小胞体ストレスが関与していると考えられている。前述のように、Wolfram症候群での  $\beta$  細胞死には小胞体ストレスが関与していると考えられる。*wfs1* 欠損マウスは特異なモデルであり、我々はこのマウスに軽度のインスリン抵抗性を賦与すると、 $\beta$  細胞の小胞体ストレスが生じ、 $\beta$  細胞死が加速することを見いだしている。さらに、この  $\beta$  細胞死はpioglitazone の投与により著明に抑制される。この特異なモデルを用いて、インスリン抵抗性(肥満)、ER ストレス、 $\beta$  細胞死の連鎖について明らかにし、この連鎖を断ち切る治療法の開発を目的としている。今回は、特に pioglitazone の  $\beta$  細胞保護メカニズムを遺伝子発現の側面から解析した。

B. 研究方法

C57BL/6J を遺伝的背景とする *wfs1* 欠損 yellow agouti マウス(C57BL/6J-*wfs1<sup>-/-</sup> A<sup>+</sup>/a*) は *wfs1* 欠損マウス(C57BL/6J-*wfs1<sup>-/-</sup>*) と yellow agouti マウス(C57BL/6J-*A<sup>+</sup>/a*) を交配し、作出して使用した。Pioglitazone は 0.01 % pioglitazone を含む餌を作成し、離乳直後から投与した。ランゲルハンス氏島の単離はコーラゲナーゼ法により行い、RNA は ISOGEN と QIAGEN 社の RNeasy Mini Kit

を組み合わせる単離した。Microarrayは、Affymetrix社のmouse 430A 2.0 Arrayを用い、ラ氏島RNAは逆転写し、増幅後プローブとして用いた。

RNAの定量はreal-time PCR法を用いた。RNAよりcDNAを逆転写した後、SYBER Green PCR Master Mixと7300 Real Time PR System (Applied Biosystems)を用いて行った。MIN6細胞の培養は定法により行った。 $\beta$ 細胞内におけるwfs1蛋白の局在は、マウス膵臓、MIN6細胞を用い、抗wfs1抗体による免疫電顕法により検討した。1次抗体として抗wfs1抗体を反応させた後、アビジン-ビオチン複合体法(ABC法)によりDAB、ペルオキシダーゼを用い発色させた。その後超薄切片を作成、透過型電子顕微鏡TECNAIにより観察した。MIN6細胞についても同様の工程にて免疫電顕を行った。マウス視覚系におけるwfs1蛋白の発現は、mRNA in situ hybridizationおよび免疫組織化学的に解析した。

動物実験は山口大学医学部山口大学医学部動物実験指針に基づいて、動物実験委員会の承認を得て行った。組換えDNA実験は山口大学組換えDNA実験安全管理規則に従って実施した。

## C. 研究結果

### (1) pioglitazoneによる $\beta$ 細胞保護のメカニズムに関する検討

C57BL/6Jを遺伝的背景とするwfs1欠損マウス(C57BL/6J-wfs1<sup>-/-</sup>)、yellow agoutiマウス(C57BL/6J-A<sup>y</sup>/a)は24週齢までの観察では随時血糖はほとんど上昇しない。一方、両者の交配により作出したwfs1欠損agoutiマウス(wfs1<sup>-/-</sup> A<sup>y</sup>/a)では生後8週頃から血糖は有意に上昇し、16週頃からはほぼ全例で著明な高血糖、ケトosisを来す。膵ラ氏島ではアポトーシスにより $\beta$ 細胞が選択的に消失する。興味深いことに、インスリン抵抗性改善薬であるpioglitazoneの投与により、wfs1欠損agoutiマウスでの $\beta$ 細胞のアポトーシスは回避され、糖尿病発症はほぼ完全に抑制された。このpioglitazoneによる $\beta$ 細胞保護効果のメカニズムを解析するため、wfs1<sup>-/-</sup> A<sup>y</sup>/a、wfs1<sup>-/-</sup> A<sup>y</sup>/a及びそれぞれにpioglitazoneを投与した6週齢のマウスよりラ氏島を単離し、RNA発現量をMicroarrayによって網羅的に解析した。Pioglitazoneで発現が2倍、または1/2以上変化した分子に着目し、さらにラ氏島RNAを用いて再度real-time PCRにより増減が確認できたものなかからAdmに着目した。Admは種々の組織・細胞で発現されることが知られているが、 $\beta$ 細胞での発現は我々の知る限り報告がない。MIN6細胞ではpioglitazoneにより、Admの発現は約2倍増加した。Preliminaryな解析では、Adm遺伝子プロモーターにはPPAR $\gamma$ 結合部位が存在し、同部位へのPPAR $\gamma$ の結合がpioglitazone依存性に増加することが観察された。

### (2) マウス視覚系及び膵組織におけるwfs1蛋白の発現

Wolfram症候群は、糖尿病の他、視神経萎縮を合併する。この視神経萎縮の発生機序も明かでない。そこで、マウス視覚系におけるwfs1蛋白の発現を検討した。wfs1蛋白の発現は、網膜、視神経、脳のいずれにおいても認められた。網膜においては、amacrine cell、Müller cellに強い発現が認められ、photoreceptorやhorizontal cellには中等度、bipolar cellやretinal ganglion cellにはごくわずかに発現が見られた。視神経では特にastrocyteに発現が認められたが、視交叉や視索にはほとんど発現が見られなかった。さらに上丘、視交叉上核、1次、2次視覚野の灰白質にwfs1の発現が認められた。Wfs1は視覚系において広く発現が認められ、視神経萎縮の成因を考える上で興味ある結果であった。膵においては、ランゲルハンス氏島、特に $\beta$ 細胞、 $\delta$ 細胞にwfs1が発現されることを示しているが、今回はさらに免疫電顕法による観察により、 $\alpha$ 細胞には発現されず、 $\beta$ 細胞に特異的に発現されること、細胞内においては小胞体に発現されることが直接確認された。さらに、 $\beta$ 細胞では小胞体に加えて、他の細胞内小器官でのwfs1の発現が認められた。さらにsubcellular fractionationによる生化学的分析によりその細胞内局在を確認中である。

## D. 考察

wfs1欠損agoutiマウス(wfs1<sup>-/-</sup> A<sup>y</sup>/a)で、pioglitazone投与により $\beta$ 細胞死が著明に回避される。インスリン抵抗性による $\beta$ 細胞でのインスリン合成・分泌の増加は $\beta$ 細胞の小胞体ストレスを亢進させ、小胞体ストレスに対して脆弱であるwfs1<sup>-/-</sup> $\beta$ 細胞をアポトーシスに至らせる。Pioglitazoneは、一部には、全身的なインスリン抵抗性の改善により $\beta$ 細胞での小胞体ストレスを軽減し、 $\beta$ 細胞を保護すると考えられる。以前の我々の観察では、pioglitazone投与wfs1<sup>-/-</sup> A<sup>y</sup>/aマウスのラ氏島では依然としてBipの発現は亢進しており、小胞体ストレスは十分に低下していないことから、pioglitazoneには $\beta$ 細胞への直接の保護作用があると考えている。今回、我々が同定した $\beta$ 細胞でのpioglitazoneの標的遺伝子Admは、 $\beta$ 細胞保護作用の一部を担うものである可能性がある。今後、この点を中心に検討を進めて行く予定である。また、pioglitazoneは、wfs1欠損マウスのみでなく、db/dbマウスを始め多くの糖尿病モデル動物で $\beta$ 細胞保護作用が示されている。そのメカニズムも多様であると考えられるが、一つ一つひもといてゆくことは一般の糖尿病患者に対する $\beta$ 細胞保護をターゲットにした薬剤の開発につながり、また、同時にWolfram症候群患者に見られる $\beta$ 細胞障害の特異的治療薬の開発にも繋がって行くこと期待される。wfs1蛋白は、細胞内カルシウムのホメオスタシスを維持し、小胞体ストレス応答に関わる機能を持つと考えられるが、その機能や、欠損による $\beta$ 細胞死のメカニズムは十分に解明されていない。 $\beta$ 細胞や、視神経の特異的な障害のメカニズムを一層解明するために、改めてwfs1の

組織内、細胞内局在を明らかにすることは重要である。

## E. 結論

*wfs1<sup>-/-</sup> A<sup>v</sup>/a*、*wfs1<sup>-/-</sup> A<sup>v</sup>/a*及びそれぞれにpioglitazoneを投与したマウスのラ氏島における遺伝子発現をmicroarrayにより解析することにより、β細胞でpioglitazoneにより発現誘導される分子Admを同定した。このプロモーターにはPPAR $\gamma$ 結合部位が存在し、実際に同部位にPPAR $\gamma$ がpioglitazone依存性に結合することがChIP法により示された。Admは酸化ストレスを抑制することで組織保護に働くことが報告されており、PPAR $\gamma$ によるβ細胞保護作用の一部を説明するものとして期待される。*wfs1*の欠損による視神経萎縮の機序を解明する手がかりとして、視覚系における*wfs1*の発現を検討した。*wfs1*の発現は網膜から1次、2次視覚野にわたり、視覚系に広く分布していた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- Kawano J, Tanizawa Y, Shinoda K. The Wolfram syndrome 1 (*Wfs1*) gene expression in the normal mouse visual system. J Comp Neurol. in press
- Taguchi A, Emoto M, Okuya S, Fukuda N, Nakamori Y, Miyazaki M, Miyamoto S, Tanabe K, Aburatani H, Oka Y, Tanizawa Y. Identification of Glypican3 as a novel GLUT4 binding protein. Biochem Biophys Res Commun in press.

### 2. 学会発表

- Hatanaka M, Akiyama M, Ueda K, Tsuru M, Miyazaki M, Oka Y, Tanizawa Y. Increased insulin demand causes pancreatic ceta-cell apoptosis in the *Wfs1* knock-out mice The 14<sup>th</sup> Korea-Japan Symposium on Diabetes Mellitus. Oct.5-6, 2007, Kyoto Japan
- Tanizawa Y, Nakamori Y, Emoto M, Fukuda N, Taguchi A, Okuya S. Myosin motor Myo1c and its receptor NEMO/IKK- $\gamma$  promote TNF- $\alpha$  induced insulin resistance via phosphorylation of IRS-1 at serine<sup>307</sup> 3<sup>rd</sup> Scientific Meeting of the Asia-Pacific Diabetes and Obesity Study Group. August 25-26,2007, Taizhou,China
- Emoto M, Fukuda N, Nakamori Y, Taguchi A, Miyamoto S, Uraki U, Oka Y, Tanizawa Y. DOC2B:Anovel Syntaxin4 Binding Protein Mediating Insulin-Regulated GLUT4-Vesicle Fusion in

Adipocytes The 14<sup>th</sup> Korea-Japan Symposium on Diabetes Mellitus. Oct.5-6, 2007, Kyoto Japan

- Taguchi A, Emoto M, Fukuda N, Nakamori Y, Miyamoto S, Tanabe K, Okuya S, Oka Y, Tanizawa Y. GPI-linked proteoglycan(GLPG)regulates GLUT4 in caveolin-rich microdomains. The 9<sup>th</sup> Symposium on Molecular Diabetology in Asia, Nov.23-24, 2007, Jakarta, Indonesia.
- Miyazaki M, Emoto M, Fukuda N, Matsubara A, Okuya S, Tanizawa Y. Double C2 domain protein (Doc2b) regulates insulin secretion in pancreatic beta-cells. 67th Annual Meeting and Scientific Sessions of the American Diabetes Association. June 22 - 26, 2007 Chicago, IL, USA.
- Taguchi A, Emoto M, Fukuda N, Nakamori Y, Miyamoto S, Tanabe K, Okuya S, Oka Y, Tanizawa Y. GPI-linked proteoglycan p69 regulates Glut4 molecule at caveolin-rich microdomains. 67th Annual Meeting and Scientific Sessions of the American Diabetes Association, June 22 - 26, 2007 Chicago, IL, USA.
- Fukuda N, Emoto M, Nakamori Y, Taguchi A, Miyamoto S, Uraki S, Oka Y, Tanizawa Y. PKC lambda-DOC2b-Syntaxin4 Defines Novel Insulin-signal Pathway Regulating GLUT4-vesicle Fusion. 67th Annual Meeting and Scientific Sessions of the American Diabetes Association, June 22 - 26, 2007 Chicago, IL, USA.
- 谷澤幸生、秋山 優、幡中雅行、植田浩平、宮崎睦子、岡 芳知 インスリン需要増大時の膵β細胞小胞体ストレスと細胞死-wfs1欠損マウスをモデルとした検討- 第50回日本糖尿病学会年次学術集会(平成19年5月24-26日 仙台市)2007
- 幡中雅行、秋山 優、柳井章江、鶴 政俊、植田浩平、篠田 晃、谷澤幸生 インスリン抵抗性がwfs1欠損マウスの膵β細胞に与える影響:電顕像からの考察 第80回日本内分泌学会学術総会(平成19年6月-16日 東京)

## G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他(研究に関する新聞記事等)  
なし

小胞体ストレス関連遺伝子の機能解析と結合蛋白同定に関する研究  
分担研究者 浅野 知一郎 広島大学大学院医歯薬学総合研究科 教授

研究要旨

膵β細胞の機能保持や増殖には、インスリンシグナルや栄養系のシグナルが関与している。高脂肪食負荷によってインスリン抵抗性を惹起させると、初期にはβ細胞は増殖し、代償的なインスリン分泌増加が認められる。また、IRS-2 KOマウスでは膵β細胞の増殖が顕著に抑制されていることから、IRS-1/2の機能を修飾するタンパクが、膵β細胞の機能に重要な役割を果たしている可能性が考えられる。我々は、IRS-1に結合するタンパクを、免疫沈降からの複合体解析をLC/MS/MSのシステムを用いて行った。その結果、多くのIRS-1結合タンパクが同定されたが、その中で、proryl isomerase I (Pin1)を新規に同定することに成功した。Pin1は、リン酸化セリン-プロリン配列を認識して結合し、プロリンをtrans構造に変化させることでタンパクの構造変化をもたらす、機能を修飾することが知られている。特に、cyclin D1の作用にPin1は極めて重要であり、両者が結合することで細胞増殖が誘導されると共に、アポトーシスには抑制的に作用することが報告されている。

我々は、さらに、高脂肪食によって、膵β細胞におけるPin1に発現が増加することを見出した。すなわち、高脂肪食における膵β細胞の増殖には、Pin1の発現誘導が関与している可能性が考えられる。現在、Pin1 KOマウスを入手し、これに高脂肪食負荷を行い、膵β細胞の機能や増殖がどのように変化しているかを詳細に検討している段階である。

A. 研究目的

膵β細胞は小胞体ストレスなどの刺激によってアポトーシスが誘導され、インスリン分泌低下の原因となる。しかし、膵β細胞もある条件下では増殖能を有する。例えば、インスリン抵抗性状態の初期においては、細胞数が増加することも知られている。また、ノックアウトマウスによる検討から、IRSタンパクを介したシグナルが、細胞増殖を誘導することも明らかになっている。そこで、IRS-1/2に結合するタンパクを同定し、これを介して細胞周期の調節や細胞増殖への分子機構を解明することを当初の目的とした。

B. 研究方法

IRS-1タンパクに免疫沈降用の特殊なtagを取り付けた融合タンパクを発現するアデノウイルスを作成した。このtagは、myc tagとFlag tagの間にTEVプロテアーゼによる特異的な切断配列を有するものであり、これによって高純度に免疫沈降を行うことが可能となる。これを、各種細胞あるいはマウスの肝臓に発現させた後、免疫沈降させ、IRS-1と共に沈降するタンパクを網羅的に同定した。

同定されたタンパクの中で、高脂肪食等の負荷によって発現が増加するか否か、また細胞増殖やアポトーシスの制御に関与するか否かを検討した。候補となるタンパクについては、細胞への導入実験や、ノックアウトマウスを用いることで、機能解析をすすめ、β細胞のアポトーシスや機能障害を防止するための薬剤ターゲットとなりうるかを検討を行う。

C. 研究結果

IRS-1を含むタンパク複合体中にproryl isomerase I (Pin1)が同定された。実際に、肝細胞からの免疫沈降によって、内因性のIRS-1とPin1の結合は容易に確認された。また、IRS-1をアルカリフォスファターゼ処理すると結合能が失われることや、Pin1内のWWドメインが結合に関与することが明らかとなった。さらに重要なことに、高脂肪食を2週間負荷したマウスでは、肝臓と筋肉におけるPin1の発現量が3-10倍程度、増加していた。免疫染色による検討によって、β細胞でも同様に発現が増加していた。次に、Pin1が結合するタンパクについても検討をすすめたところ、Pin1はIRS-1/2に加え、CREBのco-activatorであるTORC2にも結合することが判明した。従って、既知の結合タンパクであるCyclin DやRARと共に、β細胞において多くの遺伝子の転写制御に関与することが推測される。

D.E. 考察および結論

Pin1は、現在、アルツハイマー病や癌との関連について報告がなされているが、代謝に関する報告は全く存在しない。高脂肪食負荷によってPin1の発現量が顕著に増加することが、代謝にどのような役割を果たしているか、これからの研究によって明らかにできよう。この目的には、Pin1をアデノウイルスの系で過剰発現させるのみならず、Pin1のKOマウスを用いる予定である。具体的には、Pin1のKOマウスに高脂肪食を負荷した場合、肝臓や筋肉のインスリン感受性はどのように変化するか、それと同時に、β細胞の増殖やインスリン分泌能がどのように変化するかを詳細に検討する。逆に、Pin1をアデノウイルスの系で過剰発現させたマウスも作成する予定である。おそらくは、

Pin1はcyclin D1を調節し、細胞周期を促進することが予測されるので、Pin1のKOマウスでは、 $\beta$ 細胞の増殖が抑制され、インスリン分泌不全に至りやすい可能性を推測している。

さらに、小胞体ストレスの負荷状態において、Pin1の過剰発現やsiRNAによる発現抑制の実験をすすめ、小胞体ストレスによる $\beta$ 細胞の障害への関与について検討を進める予定である。

我々は、IRS-1/2に結合するタンパクとしてPin1を新規に同定したPin1はIRS-1/2に加え、CREBのcoactivatorであるTORC2にも結合することが判明した。また、既知の報告から、Pin1はcyclin D1の機能調節に決定的に重要であり、細胞増殖を導く。我々は、Pin1の発現が高脂肪食によって顕著に誘導されることから、 $\beta$ 細胞のアポトーシスの抑制や増殖の誘導、小胞体ストレスに対する防御機構として、このPin1の発現誘導が重要であると考え、さらに検討を進めている段階であり、有意義な成果が期待できる状況にある。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- Koketsu, Y., Sakoda, H., Fujishiro, M., Kushiya, A., Fukushima, Y., Anai, M., Kikuchi, T., Fukuda, T., Kamata, H., Uchijima, Y., Kurihara, H., and Asano, T. Hepatic overexpression of a dominant negative form of Raptor enhances Akt phosphorylation and restores insulin resistance in K/KAy mice. *Am. J. Physiol. Endo. Metab.*, 2007 (in press)
- Kurihara, Y., Kawamura, Y., Uchijima, Y., Amano, T., Kobayashi, H., Asano, T. and Kurihara, H. Maintenance of genomic methylation patterns during preimplantation development requires the somatic form of DNA methyltransferase 1 *Developmental Biology.* 313; 335-46, 2008
- Ikegami, Y., Inukai, K., Awata, T., Asano, T., Katayama, S. SH3 domain of the phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit is responsible for the formation of a sequestration complex with insulin receptor substrate-1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 365; 433-8, 2008
- Fujio, J., Kushiya, A., Sakoda, H., Fujishiro, M.,

Ogihara, T., Fukushima, Y., Anai, M., Horike, N., Kamata, H., Uchijima, Y., Kurihara, H., and Asano, T. Regulation of gut-derived resistin-like molecule b expression by nutrients. *Diab. Res. Clin. Pract.* 79; 2-10, 2008

- Ono, H., Sakoda, H., Fujishiro, M., Anai, M., Kushiya, A., Fukushima, Y., Katagiri, H., Ogihara, T., Oka, Y., Kamata, H., Horike, N., Uchijima, Y., Kurihara, H., and Asano, T. Carboxyl-terminal Modulator Protein (CTMP) Induces Akt phosphorylation and activation, thereby enhancing anti-apoptotic, glycogen synthetic and glucose uptake pathways. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 293; C1576-85, 2007
- Asano, T., Fujishiro, M., Kushiya, A., Nakatsu, Y., Yoneda, M., Kamata, H., and Sakoda, H. Role of phosphatidylinositol 3-kinase activation on insulin action and its alteration in diabetic conditions. *Biol. Pharm. Bull.* 30: 1610-6, 2007
- Takagi, H., Matsui, Y., Hirotsu, S., Sakoda, H., Asano, T., and Sadoshima, J. AMPK mediates autophagy during myocardial ischemia in vivo. *Autophagy* 3: 405-7, 2007
- Tonami, K., Kurihara, Y., Aburatani, H., Uchijima, Y., Asano, T., and Kurihara, H. Calpain 6 is involved in microtubule stabilization and cytoskeletal organization. *Mol. Cell Biol.* 27: 2548-61, 2007

### 2. 学会発表

なし

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

大腸癌、動脈硬化症、又はメタボリックシンドロームの検出方法

特願2007-321240号

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他(研究に関する新聞記事等)

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
<u>Katagiri H</u> , Yamada T, <u>Oka Y</u> .	Adiposity and cardiovascular disorders -disturbance of the regulatory system consisting of humoral and neuronal signals.	Circ Res	101 (1)	27-39	2007
Yoshizumi S, Suzuki S, Hirai M, Hinokio Y, Yamada T, Yamada T, Tsunoda U, Aburatani H, Yamaguchi K, Miyagi T, <u>Oka Y</u> .	Increased hepatic expression of ganglioside-specific sialidase, NEU3, improves insulin sensitivity and glucose tolerance in mice.	Metabolism	56 (3)	420-9	2007
Awata S, Bech P, Yoshida S, Hirai M, Suzuki S, Yamashita M, Ohara A, Hinokio Y, Matsuoka H, <u>Oka Y</u> .	Reliability and validity of the Japanese version of the world health organization-five well-being index in the context of detecting depression in diabetic patients.	Psychiatry Clin Neurosci	61 (1)	112-119	2007
Nonogaki K, Nozue K, Kuboki T, <u>Oka Y</u> .	Milnacipran, a serotonin and noradrenalin reuptake inhibitor, induces appetite suppressing effects without inducing hypothalamic stress responses in mice.	Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol	292 (5)	R1775-81	2007
Hasegawa Y, Ogihara T, Yamada T, Ishigaki Y, Imai J, Uno K, Gao J, Kaneko K, Ishihara H, Sasano H, Nakauchi H, <u>Oka Y</u> , <u>Katagiri H</u> .	Bone marrow (BM) transplantation promotes {beta} cell regeneration after acute injury through BM cell mobilization.	Endocrinology	148 (5)	2006-15	2007
Ono H, Sakoda H, Fujishiro M, Anai M, Kushiyaama A, Fukushima Y, <u>Katagiri H</u> , Ogihara T, <u>Oka Y</u> , Kamata H, Horike N, Uchijima Y, Kurihara H, <u>Asano T</u> .	Carboxyl-terminal modulator protein (CTMP) induces akt phosphorylation and activation, thereby enhancing anti-apoptotic, glycogen synthetic and glucose uptake pathways.	Am J Physiol Cell Physiol	293 (5)	C1576-85	2007
Nonogaki K, Nozue K, <u>Oka Y</u> .	Social isolation affects the development of obesity and type 2 diabetes in mice.	Endocrinology	148 (10)	4658-66	2007
Yamada T, Imai J, Ishigaki Y, Hinokio Y, <u>Oka Y</u> , <u>Katagiri H</u> .	Possible relevance of HLA-DRB1*0403 haplotype in insulin autoimmune syndrome induced by $\alpha$ -lipoic acid, used as a dietary supplement.	Diabetes Care	30 (12)	e131	2007
Yamada T, <u>Katagiri H</u> .	Avenues of Communication between the Brain and Tissues/Organs Involved in Energy Homeostasis.	Endocrine J	54 (4)	497-505	2007

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
<b>Asano T</b> , Fujishiro M, Kushiya A, Nakatsu Y, Yoneda M, Kamata H, and Sakoda, H.	Role of phosphatidylinositol 3- kinase activation on insulin action and its alteration in diabetic conditions.	Biol Pharm Bull	30 (9)	1610-6	2007
Takagi H, Matsui Y, Hirotsu S, Sakoda H, <b>Asano T</b> , Sadoshima J.	AMPK mediates autophagy during myocardial ischemia in vivo.	Autophagy	3 (4)	405-7	2007
Tonami K, Kurihara Y, Aburatani H, Uchijima Y, <b>Asano T</b> , Kurihara H.	Calpain 6 is involved in microtubule stabilization and cytoskeletal organization.	Mol Cell Biol	27 (7)	2548-61	2007
Okimoto H, Ishigaki Y, Koiwa Y, Hinokio Y, Ogihara T, Suzuki S, <b>Katagiri H</b> , Ohkubo T, Hasegawa H, Kanai H, <b>Oka Y</b> .	A novel method for evaluating human carotid artery elasticity: possible detection of early stage atherosclerosis in subjects with type 2 diabetes.	Atherosclerosis	196 (1)	391-7	2008
Yamada T, <b>Oka Y</b> , <b>Katagiri H</b> .	Inter-organ metabolic communication involved in energy homeostasis: Potential therapeutic targets for obesity and metabolic syndrome.	Pharmacol Ther	117 (1)	188-98	2008
Kurihara Y, Kawamura Y, Uchijima Y, Amano T, Kobayashi H, <b>Asano T</b> , and Kurihara H.	Maintenance of genomic methylation patterns during preimplantation development requires the somatic form of DNA methyltransferase 1.	Developmental Biology	313 (1)	335-46	2008
Ikegami Y, Inukai K, Awata T, <b>Asano T</b> , Katayama S.	SH3 domain of the phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit is responsible for the formation of a sequestration complex with insulin receptor substrate-1.	Biochem Biophys Res Commun	365 (3)	433-8	2008
Fujio J, Kushiya A, Sakoda, H Fujishiro, M, Ogihara T, Fukushima Y, Anai M, Horike N, Kamata H, Uchijima Y, Kurihara H, and <b>Asano T</b> .	Regulation of gut-derived resistin- like molecule b expression by nutrients	Diabetes Res Clin Pract	79 (1)	2-10	2008
Yamaguchi S, Ishihara H, Yamada T, Tamura A, Usui M, Tominaga R, Munakata Y, Satake C, <b>Katagiri H</b> , Tashiro F, Aburatani H, Tsukiyama-Kohara K, Miyazaki J, Sonenberg N, and <b>Oka Y</b> .	ATF4-mediated induction of 4E-BP1 contributes to pancreatic $\beta$ cell survival under endoplasmic reticulum stress.	Cell Metabolism	7 (3)	269-76	2008
Kato T, Ishiwata M, Yamada K, Kasahara T, Kakiuchi C, Iwamoto K, Kawamura K, Ishihara H, <b>Oka Y</b> .	Behavioral and gene expression analyses of Wfs1 knockout mice as a possible animal model of mood disorder.	Neuroscience Research			in press

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nedachi T, Kadotani A, Ariga M, <b>Katagiri H</b> , Kanzaki M.	Ambient Glucose Levels Qualify the Potency of Insulin Myogenic Actions by Regulating SIRT1 and FoxO3a in C2C12 myocytes.	Am J Physiol Endocrinol Metab			in press
Ariga M, Nedachi T, <b>Katagiri H</b> , Kanzaki M.	Functional role of sortilin in myogenesis and development of insulin-responsive glucose transport system in C2C12 myocytes.	J Biol Chem			in press
Kawano J, <b>Tanizawa Y</b> , Shinoda K.	The Wolfram syndrome 1 ( <i>Wfs1</i> ) gene expression in the normal mouse visual system.	J Comp Neurol			in press
Taguchi A, Emoto M, Okuya S, Fukuda N, Nakamori Y, Miyazaki M, Miyamoto S, Tanabe K, Aburatani H, <b>Oka Y</b> , <b>Tanizawa Y</b> .	Identification of Glypican3 as a novel GLUT4 binding protein .	Biochem Biophys Res Commun			in press
Koketsu Y, Sakoda, H, Fujishiro M, Kushiya A, Fukushima Y, Anai M, Kikuchi T, Fukuda T, Kamata H, Uchijima Y, Kurihara H, and <b>Asano T</b> .	Hepatic overexpression of a dominant negative form of Raptor enhances Akt phosphorylation and restores insulin resistance in K/KAy mice.	Am J Physiol Endocrinol Metab			in press

This Review is part of a thematic series on **Adipocyte Signaling in the Cardiovascular System**, which includes the following articles:

Adipose Tissue, Inflammation, and Cardiovascular Disease

Adipocyte Signaling and Lipid Homeostasis: Sequelae of Insulin Resistant Adipose Tissue

Diabetic Cardiomyopathy: The Search for a Unifying Hypothesis

Adiposity and Cardiovascular Disorders: Disturbance of the Regulatory System Consisting of Humoral and Neuronal Signals

PPAR $\gamma$  Activation and the Effects on the Vasculature

*Philipp Scherer, Guest Editor*

## **Adiposity and Cardiovascular Disorders Disturbance of the Regulatory System Consisting of Humoral and Neuronal Signals**

Hideki Katagiri, Tetsuya Yamada, Yoshitomo Oka

**Abstract**—Obesity, a major healthcare issue, is associated with significant cardiovascular morbidities, including hypertension and atherosclerosis. Numerous intensive studies conducted this decade have revealed that adipose tissue is a major endocrine organ that secretes a variety of bioactive substances, termed adipocytokines. Adipocytokine secretion profiles are altered as obesity develops, which may increase the risk of obesity-related cardiovascular disorders. For instance, leptin is upregulated in obese subjects and plays important roles in the pathophysiology of obesity-related atherogenesis through multiple mechanisms, such as its proliferative, proinflammatory, prothrombotic, and prooxidant actions. In contrast, adiponectin, which is downregulated in obese subjects, has protective effects against cardiovascular disorders at various atherogenic stages. In addition to these factors secreted by adipose tissue, neuronal circuits involving autonomic nerves are now being recognized as an important metabolic regulatory system and have thus attracted considerable attentions. Alterations in fat accumulation in intraabdominal organs, such as visceral adipose tissue and the liver, send afferent neuronal signals to the brain, leading to modulation of sympathetic tonus and thereby affecting the vasculature. Moreover, these humoral and neuronal signaling pathways communicate with each other, resulting in cooperative metabolic regulation among tissues/organs throughout the body. Further elucidation of these regulatory systems is anticipated to lead to new approaches to devising therapeutic strategies for the metabolic syndrome. (*Circ Res.* 2007;101:27-39.)

**Key Words:** adipocytokines ■ autonomic nervous system ■ metabolic syndrome ■ atherosclerosis ■ hypertension

**E**xcess food intake and physical inactivity underlie the growing worldwide epidemic of obesity, not only in the industrialized nations but also in developing countries. A variety of common disorders, eg, hyperglycemia, hyperlipid-

emia, and hypertension, are common in obese individuals.<sup>1,2</sup> Such disorders are not clustered coincidentally, and intraabdominal visceral adiposity has been suggested to play a fundamental role in the simultaneous development of these

Original received March 5, 2007; revision received May 4, 2007; accepted May 16, 2007.

From the Division of Advanced Therapeutics for Metabolic Diseases, Center for Translational and Advanced Animal Research (H.K.); and Division of Molecular Metabolism and Diabetes (T.Y., Y.O.), Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, Japan.

Correspondence to Hideki Katagiri, MD, PhD, Division of Advanced Therapeutics for Metabolic Diseases, Center for Translational and Advanced Animal Research, Tohoku University Graduate School of Medicine, 2-1 Seiryomachi, Aoba-ku, Sendai 980-8575, Japan. E-mail katagiri@mail.tains.tohoku.ac.jp

© 2007 American Heart Association, Inc.

*Circulation Research* is available at <http://circres.ahajournals.org>

DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.107.151621

Downloaded from [circres.ahajournals.org](http://circres.ahajournals.org) at TOHOKU UNIVERSITY on February 28, 2008