

令和元年6月4日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08606

研究課題名(和文)腎メサンギウム細胞からのChREBP複合体の同定による糖尿病性腎症創薬標的の探索

研究課題名(英文) Screening of drug target proteins for diabetic nephropathy by identification of ChREBP complex from renal mesangial cells

研究代表者

横山 敦 (Yokoyama, Atsushi)

東北大学・医学系研究科・助教

研究者番号：20572332

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では糖尿病性腎症発症に関与すると考えられているDNA結合性転写因子ChREBPに着目し、その転写制御メカニズムを理解すべく最新の複合体同定法を用いて相互作用因子の同定を行った。その結果、複数の転写共役因子候補群の取得に成功しただけでなく、炎症シグナルとのクロストーク現象も見出すことができた。これらを標的とした阻害剤の開発は腎症を含む種々の疾患の治療薬の開発へとつながる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題においては、糖尿病性腎症の発症に関わると考えられているChREBPという転写因子に着目しその転写活性を制御するメカニズムの解明を行った。その結果、転写制御に関わると考えられる候補因子を複数見出すことができた。これらの因子の解析と、これらを標的とした薬剤の開発は糖尿病性腎症をはじめとした生活習慣病の治療薬の開発へと繋がる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：In this research project, we focused on ChREBP, a DNA-binding transcription factor which is believed to be involved in diabetic nephropathy pathogenesis. To understand ChREBP-mediated transcriptional regulation, we tried to identify ChREBP-containing protein complex using renal mesangial cells. In this attempt, we identified several coregulator candidates for ChREBP and, we also identified cross-talk mechanisms between ChREBP and inflammation signals. To developing drugs targeting these factors might be promising strategy for diabetic nephropathy and other metabolic syndromes.

研究分野：生化学

キーワード：生化学 糖尿病 腎症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

世界における糖尿病人口は増加の一途をたどっており、本邦での患者数は1000万人を超える。糖尿病患者と一般の平均死亡年齢を比較すると、糖尿病患者で約10年も生存期間が短いことが知られており、これは様々な合併症による死亡率の上昇が関係するものと考えられている。

糖尿病の合併症としては血管障害、神経障害、網膜症、腎症などが知られているが、中でも腎症は糖尿病の末期に発症し糖尿病歴約20年で尿蛋白を呈し人工透析療法に至る。これまでの糖尿病性腎症治療薬としては、腎系球体の血圧コントロールが有効なことからアンジオテンシン受容体拮抗薬等のレニンアンジオテンシン系を標的としたものが主に処方されていたが、治療への貢献度、治療満足度ともに非常に低いのが現状である。

2. 研究の目的

糖尿病性腎症は、我が国において腎不全になる原因一位の重要な腎疾患の一つであり、根本的治療法が存在せずその発症機構の詳細解明が急務である。ChREBPとは細胞外のグルコースに応答して標的遺伝子発現を制御するDNA結合性転写因子であり、腎メサンギウム細胞にて糖尿病性腎症発症に関与していることが最近示唆されているが、その転写機能の制御については不明な点が多い。本研究課題では、申請者らがこれまで発展させてきた生化学的手法を用いて腎メサンギウム細胞におけるChREBP転写共役因子複合体を精製・同定し、糖尿病性腎症の新たな創薬標的分子を明らかにすることを目的としている。

3. 研究の方法

最近では質量分析計の高感度化から、ホルマリンによって固定した少量の細胞から核を単離し内在性の転写因子に対する抗体を用いて複合体を精製し同定することが可能となってきた(RIME法: rapid immunoprecipitation mass spectrometry of endogenous proteins)(Mohammed et al., Cell Reports, 2013, 3, 342-349)。本研究ではこの新たな精製法であるRIME法を導入し、腎メサンギウム細胞由来の細胞株からChREBPが形成する転写共役因子複合体を精製・同定し、メサンギウム細胞に特異的な転写共役因子を絞り込むことで糖尿病性腎症における新たな創薬標的分子を提案する。

4. 研究成果

本研究課題では糖尿病性腎症発症に関与すると考えられているDNA結合性転写因子ChREBPに着目し、その転写制御メカニズムを理解すべく最新の複合体同定法であるRIME法を用いて腎メサンギウム細胞を含む数種類の細胞株より相互作用因子の同定を行った。その結果、複数の転写共役因子候補群の取得に成功した。これらの中には、これまでにChREBPの転写制御に関与することが知られていない新規の因子も含まれていた。さらに、ChREBPの相互作用因子の中から炎症関連因子に着目し解析を行ったところ、炎症シグナルとChREBPのクロストーク現象も見出すことができた。この現象もこれまで知られていなかった新規の現象であり、その生理学的意義の解明が待たれる。これらの転写制御因子やクロストーク現象を標的とした阻害剤の開発は将来的に腎症を含む種々の疾患の治療薬の開発へとつながる可能性があると考えられる。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 13件)

1) Partial proteasomal degradation of Lola triggers the male to female switch of a dimorphic courtship circuit.

Sato K, Ito H, Yokoyama A, Toba G, Yamamoto D*.

Nat Commun, (査読有), vol. 10, no. 1, 166, (2019)、doi: 10.1038/s41467-018-08146-1

2) Transglutaminase-mediated cross-linking of WDR54 regulates EGF receptor-signaling

Maeda A, Nishino T, Matsuzaki R, Yokoyama A, Suga H, Yagi T, Konishi H*.

Biochim Biophys Acta, (査読有), vol. 1866, no. 2, 285-295, (2019)、doi: 10.1016/j.bbamcr.2018.11.009

3) Endogenous Purification of NR4A2 (Nurr1) Identified Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1 as a Prime Coregulator in Human Adrenocortical H295R Cells.

Noro E, Yokoyama A*, Kobayashi M, Shimada H, Suzuki S, Hosokawa M, Takehara T, Parvin R, Shima H, Igarashi K, Sugawara A*.

Int J Mol Sci, (査読有), vol. 19, no. 5, 1406, (2018)、doi: 10.3390/ijms19051406

4) Inhibitory effects of a novel PPAR-agonist MEKT1 on Pomc expression/ACTH secretion in AtT20 cells.

Parvin R, Noro E, Saito-Hakoda A, Shimada H, Suzuki S, Shimizu K, Miyachi H, Yokoyama A, Sugawara A*.

PPAR Res, (査読有), vol. 2018, 5346272, 1-16, (2018)、doi: 10.1155/2018/5346272

5) Biochemical analysis of histone succinylation.

Yokoyama A*, Katsura S, Sugawara A.

Biochem Res Int, (査読有) 8529404, (2017)、doi: 10.1155/2017/8529404

6) Suppressive Effects of RXR Agonist PA024 on Adrenal CYP11B2 Expression, Aldosterone Secretion and Blood Pressure.

Suzuki D, Saito-Hakoda A, Ito R, Shimizu K, Parvin R, Shimada H, Noro E, Suzuki S, Fujiwara I, Kagechika H, Rainey WE, Kure S, Ito S, Yokoyama A, Sugawara A*.

PLoS One, (査読有), vol. 12, No. 8, e0181055 (2017)、doi: 10.1371/journal.pone.0181055

7) High glucose stimulates aldosterone synthase gene (CYP11B2) expression and aldosterone secretion in human adrenal cells.

Shimada H, Kogure N, Noro E, Kudo M, Sugawara K, Sato I, Shimizu K, Kobayashi M, Suzuki D, Parvin R, Saito-Ito T, Urano A, Saito-Hakoda A, Rainey WE, Ito S, Yokoyama A, Sugawara A*.

FEBS Open Bio, (査読有), vol. 7, No. 9, 1410-1421, (2017)、doi: 10.1002/2211-5463.12277

8) The reduction of heparan sulphate in the glomerular basement membrane does not augment urinary albumin excretion.

Aoki S, Saito-Hakoda A, Yoshikawa T, Shimizu K, Kisu K, Takagi K, Mizumoto S, Yamada S, van Kuppevelt TS, Yokoyama A, Matsusaka T, Sato H, Ito S, Sugawara A*.

Nephrol Dial Transplant, (査読有), vol. 33, No. 1, 26-33, (2017)、doi: 10.1093/ndt/gfx218

9) Effects of Retinoids on Vasculatures

Parvin R, Saito-Hakoda-A, Suzuki S, Noro E, Shimada H, Yokoyama A, Sugawara A*.

J Endocrinol Thyroid Res, (査読有), vol. 2, No. 3, 1-5, (2017)、doi: 10.19080/JETR.2017.02.555587

10) A ubiquitin-proteasome inhibitor Bortezomib suppresses the expression of CYP11B2, a key enzyme of aldosterone synthesis, as revealed by chemical screening.

Ito R, Sato I, Tsujita T, Yokoyama A, Sugawara A*.

Biochem Biophys Res Commun, (査読有), vol. 489, No. 1, 21-28, (2017)、doi: 10.1016/j.bbrc.2017.05.109

11) Role of NeuroD1 on the Negative Regulation of Pomc Expression by Glucocorticoid.

Parvin R, Saito-Hakoda A, Shimada H, Shimizu K, Noro E, Iwasaki Y, Fujii K, Yokoyama A, Sugawara A*.

PLoS One, (査読有), vol. 12, No. 4, e0175435, (2017)、doi: 10.1371/journal.pone.0175435

12) Versatile function of the circadian protein CIPC as a regulator of Erk activation.

Matsunaga R, Nishino T, Yokoyama A, Nakashima A, Kikkawa U, Konishi H*.

Biochem Biophys Res Commun, (査読有), vol. 469, No. 3, 377-383, (2016)、doi: 10.1016/j.bbrc.2015.11.117

13) Hydroxylation of Methylated DNA by TET1 in Chondrocyte Differentiation of C3H10T1/2 Cells.

Ito R, Shimada H, Yazawa K, Sato I, Imai I, Sugawara A, Yokoyama A*.

Biochem Biophys Rep, (査読有) vol.5, 134-140, (2015)、doi: 10.1016/j.bbrep.2015.11.009

[学会発表](計 9件)

1) 横山敦, 野呂英理香, 菅原明:「臍細胞におけるグルコース応答性転写因子 ChREBP の機能制御因子の探索」(招待講演、口頭)

第92回日本内分泌学会学術総会 シンポジウム8 内分泌代謝とエピゲノム
(2019年5月9日、仙台)

2) 横山敦, 菅原明:「前立腺癌細胞を用いたアンドロゲン受容体の新たな転写共役因子の探索」

第36回内分泌代謝学サマーセミナー(2018年8月2日、宮城蔵王)(ポスター)

3) Erika Noro, Atsushi Yokoyama, Naotaka Kogure, Rina Momma, Kyoko Shimizu, Rehana Parvin, Susumu Suzuki, Hiroki Shimada, Hiroki Shima, Kazuhiko Igarashi, Akira Sugawara: 「Involvement of IKK Complex in the Regulation of a Glucose-Responsive Transcriptional

Factor ChREBP in Pancreatic β -cell」

ENDO 2018 (2018年3月17日、シカゴ)(口頭)

4) **Atsushi Yokoyama**, Erika Noro, Makoto Kobayashi, Kyoko Shimizu, Susumu Suzuki, Hiroki Shimada, Hiroki Shima, Kazuhiko Igarashi, Akira Sugawara : 「Identification of novel AR coregulators via endogenous purification」

ENDO 2018 (2018年3月17日、シカゴ)(ポスター)

5) **横山敦**、野呂英理香、小林真、清水恭子、鈴木歩、島弘季、五十嵐和彦、菅原明 : 「核内受容体の新たな転写制御因子の探索」

第3回 Neo Vitamin D Workshop 学術集会 (2017年8月25日、東京)(ポスター)

6) **横山敦**、野呂英理香、小林真、清水恭子、鈴木歩、島弘季、五十嵐和彦、菅原明 : 「核内受容体の新たな転写制御因子の探索」

第2回次世代生命科学の研究会 (2017年7月13日、福岡)(ポスター)

7) **横山敦**、菅原明 : 「新たな翻訳後修飾の探索」

第8回日本生化学会大会 (2016年9月26日、仙台)(ポスター)

8) **横山敦** : 「新たな転写複合体同定の試み」

第1回次世代生命科学の研究会 (2016年8月12日、徳島)(招待講演、口頭)

9) **横山敦**、菅原明 : 「新たな翻訳後修飾の探索」

第33回内分泌代謝学サマーセミナー (2015年7月9日、柳川)(ポスター)

〔図書〕(計 3件)

1) 軟骨細胞の分化における IGF-1 遺伝子のエピジェネティック制御と成長ホルモンの作用
菅原明、**横山敦**、伊藤亮
成長科学協会研究年報 (公益財団法人成長科学協会) 第39号、115、(2016)

2) 軟骨細胞の分化における IGF-1 遺伝子のエピジェネティック制御と成長ホルモンの作用
菅原明、**横山敦**、伊藤亮
東北医学雑誌 (東北医学会) 第128号、第1巻、72、(2016)

3) レチノイド受容体と内分泌・代謝疾患
菅原明、宇留野晃、**横山敦**、箱田明子、影近弘之
日本応用酵素協会誌 (公益財団法人日本応用酵素協会) 第50巻、21-24、(2016)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1件)

名称 : 1, 3-ジオキソラン誘導体

発明者 : 菅原明、**横山敦**、鈴木歩、岩淵好治、土居隆行

権利者 : 同上

種類 : 特許

番号 : 特願 2019-025963

出願年 : 2019

国内外の別 : 国内

取得状況 (計 1件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年 :

国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名 :

ローマ字氏名 :

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：島弘季

ローマ字氏名：SHIMA hiroki

研究協力者氏名：菅原明

ローマ字氏名：SUGAWARA akira

研究協力者氏名：野呂英理香

ローマ字氏名：NORO erika

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。