

平成22年 5月25日現在

研究種目：基盤研究(C)
研究期間：2007～2010
課題番号：19590150
研究課題名(和文) インスリンによるアクアグリセロポリンの発現調節機序解析とグリセロール代謝調節
研究課題名(英文) Studies on mechanism of the expression of aquaglyceroporins by insulin and contribution of aquaglyceroporins to glycerol metabolism
研究代表者
臼井 茂之 (USUI SHIGEYUKI)
岐阜薬科大学・薬学部・准教授
研究者番号：40176665

研究代表者の専門分野：医歯薬学
科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学
キーワード：アクアポリン3、アクアグリセロポリン、エピネフリン、マグネシウム、トランプッキング、プロテインキナーゼA、プロテインキナーゼC、グリセロール

1. 研究計画の概要

- (1) インスリンによるアクアポリン3 (AQP3) 遺伝子発現抑制のシグナル伝達経路の解明。
- (2) インスリン応答に起因した AQP3 の転写調節に関わるゲノム上の転写調節領域および転写調節因子の同定。
- (3) 緩下剤として用いられるマグネシウム製剤(Mg²⁺)の消化管における AQP3 に及ぼす影響。
- (4) インスリン及びエピネフリンによる AQP3 の細胞内局在性変化の機序解明。
- (5) 肝におけるグリセロールを介したエネルギー代謝調節と AQP9 発現調節との関連性の追求。

2. 研究の進捗状況

- (1) インスリンによる AQP3 遺伝子発現抑制のシグナル伝達は、インスリン受容体、PI3K、Akt、mTOR の各シグナル伝達因子を介することをヒト大腸がん由来 Caco-2 細胞を用いて明らかにした。
- (2) ルシフェラーゼレポーター遺伝子アッセイ及び RNAi プローブを用いてインスリン応答に起因した AQP3 の転写調節に関わるゲノム上の転写調節領域および転写調節因子を検討した結果、転写因子 Foxa2 が関与することを Caco-2 細胞を用いて明らかにした。
- (3) Caco-2 細胞に Mg²⁺ を作用させ、AQP3 遺伝子発現に関与するシグナル伝達因子及び転写調節因子を検討した結果、アデニル酸シクラーゼ、MAP キナーゼ系を介し、転写調節因子 CREB により発現上昇調節されてい

ることを明らかにした。

- (4) エピネフリンによる Caco-2 細胞中の AQP3 の細胞内局在性変化を検討した結果、Gq 複合受容体、PLC、PKC のシグナル伝達因子を介して、AQP3 が細胞膜に移行することを明らかにした。

3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している。
進捗状況で述べたように、研究概要(1)～(4)までは、ほぼ研究目標を達成し、既に著明ジャーナルに論文投稿して採択・掲載されている。本年度は、(4)の未解明部分と(5)について全力で取り組む予定である。

4. 今後の研究の推進方策

研究計画の概要で述べた(4)と(5)は研究途上にある。この課題を解明するため、(4)においては共焦点レーザー顕微鏡を有効に活用し、また、(5)においてはエネルギー代謝調節に関与する因子の阻害剤や抗体を用いて研究を進展させる予定である。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計5件)

1. Masafumi Kubota, Aya Shinoda, Kazuhiro Iguchi, Yukari Takahashi, Shigeyuki Usui, Tadashi Kiho and Kazuyuki Hirano. Up-regulation of the lysyl hydroxylase 2 gene by acetaminophen and isoniazid is modulated by

- transcription factor c-Myb. J. Pharm. Pharmacol. (2010) accepted. 査読有
2. Yuichi Yokoyama, Masafumi Kubota, Kazuhiro Iguchi, Shigeyuki Usui, Tadashi Kiho and Kazuyuki Hirano. Regulation of glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase expression by metformin in HepG2 cells. Biol. Pharm. Bull., 32(7), 1160-1165 (2009) 査読有
 3. Hideyuki Yasui, Masafumi Kubota, Kazuhiro Iguchi, Shigeyuki Usui, Tadashi Kiho, and Kazuyuki Hirano. Membrane trafficking of aquaporin 3 induced by epinephrine. Biochem. Biophys. Res. Commun., 373, 613-617 (2008) 査読有
 4. Masasi Okahira, Masafumi Kubota, Kazuhiro Iguchi, Shigeyuki Usui, and Kazuyuki Hirano. Regulation of aquaporin 3 expression by magnesium ion. Eur. J. Pharmacol., 588(1), 26-32 (2008). 査読有
 5. Shota Higuchi, Masafumi Kubota, Kazuhiro Iguchi, Shigeyuki Usui, Tadashi Kiho, and Kazuyuki Hirano. Transcriptional regulation of aquaporin 3 by insulin. J. Cell. Biochem., 102, 1051-1058 (2007). 査読有

〔学会発表〕(計5件)

1. 横山雄一, 井口和弘, 臼井茂之, 平野和行 AMPKを介したアクアポリン9の発現抑制機序 日本薬学会第130年会 2010年3月30日 岡山
2. 横山雄一, 井口和弘, 臼井茂之, 平野和行 AMPKを介したアクアポリン9の発現制御 日本薬学会第129年会 2009年3月27日 京都
3. 保居英行, 窪田傑文, 井口和弘, 臼井茂之, 平野和行 エピネフリンによるAMP活性化プロテインキナーゼによるアクアポリンの膜移行制御 日本薬学会第128年会 2008年3月27日 横浜
4. 横山雄一, 井口和弘, 臼井茂之, 平野和行 メトホルミンによるグリセルアルデヒド3リン酸脱水素酵素の発現低下 日本薬学会第128年会 2008年3月27日 横浜
5. Shigeyuki Usui, Masashi Okahira, Masafumi Kubota, Kazuhiro Iguchi, and Kazuyuki Hirano. Regulation of Aquaporin 3 Expression by Magnesium Ion. The 5th International Conference of Aquaporin July 14, 2007 奈良