

平成 21 年 5 月 19 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19591077

研究課題名（和文）糖脂質代謝を調節する 2 つの新規ケモカインの同定と生理機能の解析

研究課題名（英文）Identification and analysis of two novel chemokines that regulate glucose and lipid metabolism

研究代表者

高橋 裕 (TAKAHASHI YUTAKA)

神戸大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：70301281

研究成果の概要：私たちが同定した GI1 と AC1 の二つの新規ケモカインについての解析を行った。GI1 (CXCL14) は肝細胞において GH によって誘導されるケモカインとして同定したが、血中濃度がインスリンによって調節されており、脂肪細胞においてインスリン依存性のグルコース取り込みを促進することが明らかになった (BBRC 364, 1037, 2007)。AC1 (ケマリン) は新規アディポカインとして同定したが、脂肪細胞においてインスリンシグナルを促進することを見だし、FEBS letters 582, 573, 2008 に報告した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：内科系

科研費の分科・細目：内分泌学

キーワード：ケモカイン、アディポカイン、代謝、脂肪細胞、 β -細胞

1. 研究開始当初の背景

レプチン、アディポネクチンの発見によって脂肪組織が内分泌臓器であることが明らかにされ、また多くの未知のホルモンが存在することが予想されていた。その一方、動脈硬化や肥満が一種の炎症性疾患であるという概念が提唱され、炎症や免疫を調整しているサイトカイン、ケモカインが代謝調節に関連している可能性が示唆されていた。私たちは分子生物学的手法を用いて代謝調節に関

係した新規ホルモンを同定するプロジェクトを行っていたが、その中で新規アディポカインとしてケマリンを、肝細胞において GH によって誘導される機能不明のケモカインとして CXCL14 を同定した。

2. 研究の目的

私たちが代謝調節に関係した新規分泌蛋白として同定した CXCL14 およびケマリンの

作用および生理機能を明らかにする。

3. 研究の方法

CXCL14 およびケマリンの遺伝子組換え産物、特異的抗体、ノックアウトマウス、トランスジェニックマウスを作製し、培養細胞に対する作用、ノックアウトマウス、トランスジェニックマウスにおける表現型の解析、またその表現型の発症機序についての解析を行った。

4. 研究成果

1) CXCL14 は肝臓および脂肪組織に発現しており、高脂肪食、インスリン投与によって発現量、血中濃度が上昇した。さらに CXCL14 添加によって 3T3L1 脂肪細胞におけるインスリン依存性グルコース取り込みが促進された(BBRC2007)。これらの結果は CXCL14 ノックアウトマウスが高脂肪食による肥満に抵抗性であることと考え合わせると、高脂肪食による肥満発症に重要な役割を果たしている可能性が考えられた。

2) ケマリンは、私たちを含む4つのグループから新規アディポカインとして報告された。ケマリンは前脂肪細胞には全く発現していないが、3T3L1 脂肪細胞あるいは F442A 脂肪細胞の分化とともに発現が 1000 倍以上になり、培養上清中にも分泌されている。マウス組織においては肝臓、精巣上体脂肪、内臓脂肪、褐色脂肪に強く発現している。肥満糖尿病モデルの db/db マウス脂肪組織では発現および血中濃度が低下している。ケマリン受容体である ChemR23 も成熟脂肪細胞に発現しているため、ケマリンが脂肪細胞においてオートクライン、パラクラインの機序で機能を調節している可能性を考え、遺伝子組換えケマリンを 3T3L1 脂肪細胞に添加したところ、興味深いことにインスリンシグナルを増強するとともにインスリン依存性グルコース取り込みを促進することが明らかとなった(FEBS letters 2008)。さらに私たちは、ヒト活性型ケマリンの ELISA を樹立し、検診サンプルおよび糖尿病患者サンプルで測定したところ、肥満、糖尿病、血糖、レプチン濃度と関連していることを明らかにした(論文投稿中)。さらにノックアウトマウスを作製し解析したところケマリンがインスリン感受性、インスリン分泌調節いずれにも関与していること、ケマリンがβ細胞の機能維持に重要な転写因子の発現を調節することにより直接β細胞機能を制御していることを見いだした(論文投稿中)。

5. 主な発表論文等

(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 15 件)

① Takahashi Y, Takahashi M, Carpino N, Jou ST, Chao JR, Tanaka S, Shigeyoshi Y, Parganas E, Ihle JN Leukemia inhibitory factor regulates trophoblast giant cell differentiation via JAK1-Stat3-SOCS3 pathway Mol Endocrinology 2008 22(7):1673-81 (査読有)

② Ikeshita N, Kawaguchi M, Shibahara H, Toda K, Yamashita T, Yamamoto D, Sugiyama Y, Iguchi G, Takahashi Y, Kaji H, Chihara K, Okimura Y. Identification and analysis of Prop-1 binding sites in human Pit-1 gene Endocrinology 2008 in press (査読有)

③ Herningtyas EH, Okimura Y, Handayaningsih AE, Yamamoto D, Maki T, Iida K, Takahashi Y, Kaji H, Chihara K Branched-chain amino acids and arginine suppress MaFbx/atrogen-1 mRNA expression via mTOR pathway in C2C12 cell lines Biochim Biophys Acta. 2008 1780(10):1115-20. (査読有)

④ Takahashi Y, Iida K, Takeno R, Kitazawa R, Kitazawa S, Kitamura H, Fujioka Y, Yamada H, Kanda F, Ohta S, Nishimaki K, Fujimoto M, Kondo T, Iguchi G, Takahashi K, Kaji H, Okimura Y, Chihara K. Hepatic failure and enhanced oxidative stress in mitochondrial diabetes Endocr J. 2008 55(5):573-8 (査読有)

⑤ Fukuoka H, Takahashi Y, Iida K, Kudo T, Nishizawa H, Takeno R, Iguchi G, Takahashi K, Okimura Y, Kaji H, Chihara K Low Serum IGF-I/GH Ratio Is Associated with Abnormal Glucose Tolerance in Acromegaly. Hormone Research 2008;69(3):165-71. (査読有)

⑥ Iida K, Takahashi Y, Kaji H, Okimura Y, Nose O, Chihara K Difference between Japanese and Caucasian populations in the allelic frequency of growth hormone receptor polymorphism J Pediatr Endocrinol Metab 2008 in press (査読有)

⑦ Iida, Nozu K, Takahashi Y, Okimura Y, Kaji H, Matsuo M, Chihara K Diverse splicing abnormality caused by a homozygous mutation in the thiazide-sensitive sodium-chloride

cotransporter gene in a patient with Gitelman's syndrome. *Am J Kidney Dis* 2008 51(6): 1077-78 (査読有)

⑧ Imanaka M, Iida K, Murawaki A, Nishizawa H, Fukuoka H, Takeno R, Takahashi Y, Okimura Y, Kaji H, Chihara K Growth hormone stimulates mechano growth factor expression and activates myoblast transformation in C2C12 cells. *Kobe J Med Sci* 2008 23,54(1) (査読有)

⑨ Yamamoto D, Ikeshita N, Tasaki H, Herningtyas EH, Toda K, Iida K, Takahashi Y, Kaji H, Chihara K, Okimura Y GHRP-2, a GHS-R agonist, directly acts on myocytes to attenuate the dexamethasone-induced expressions of muscle specific ubiquitin ligases, Atrogin-1 and MuRF1. *Life Sci* 2008 82 460-66 (査読有)

⑩ Takahashi M, Takahashi Y, Takahashi K, Zolotaryov FN, Hong KS, Kitazawa R, Iida K, Okimura Y, Kaji H, Kitazawa S, Kasuga M, Chihara K Chemerin enhances insulin signaling and potentiates insulin-stimulated glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes *FEBS letters* 2008 582, 573-578. (査読有)

⑪ Toda K, Yamamoto D, Fumoto M, Ikeshita N, Herningtyas EH, Iida K, Takahashi Y, Kaji H, Chihara K, Okimura Y. Involvement of mmPOU (Brn-5), a class of IV POU protein, in the gene expression of Pit-1 as well as PRL. *Mol Cell Endocrinol* 2008 280(1-2):20-9. (査読有)

⑫ Takahashi Y, Iida K, Takahashi K, Yoshioka S, Fukuoka H, Takeno R, Imanaka M, Nishizawa H, Takahashi M, Seo Y, Hayashi Y, Kondo T, Okimura Y, Kaji H, Kitazawa R, Kitazawa S, Chihara K. Growth hormone reverses nonalcoholic steatohepatitis in a patient with adult growth hormone deficiency. *Gastroenterology* 2007 132(3):938-43 (査読有)

⑬ Takahashi M, Takahashi Y, Takahashi K, Zolotaorov FN, Hong KS, Iida K, Okimura Y, Kaji H, Chihara K. CXCL14 enhances insulin-dependent glucose uptake in adipocytes and is related to high-fat diet-induced obesity *Biochem Biophys Res Commun.* 2007 364(4) 1037-42. (査読有)

⑭ Imanaka M, Iida K, Nishizawa H, Fukuoka

H, Takeno R, Takahashi K, Kaji H, Takahashi Y, Okimura Y, Kaji H, Imanishi Y, Chihara K. McCune-Albright syndrome with acromegaly and fibrous dysplasia associated with the GNAS gene mutation identified by sensitive PNA-clamping method. *Intern Med.* 2007;46(18):1577-83. (査読有)

⑮ Kaji H, Iida K, Takahashi Y, Okimura Y, Chihara K. Hormone Replacement Therapy and Vascular Risk Disorders in Adult Hypopituitarism. *Endocr J.* 2007 54(2):239-45 (査読有)

[学会発表] (計6件)

① 杉山裕香、転写因子 Prop1 と作用するコファクターの同定、第35回日本神経内分泌学会、平成20年8月28日、東京

② 芝原優美、共に DNA 結合ドメインがインタクトと想定されている変異 Prop-1 S156insT と W194X は、ヒト Pit-1 遺伝子における Prop1 結合部位に対し異なった結合能を示す、第35回日本神経内分泌学会、平成20年8月28日、東京

③ 福岡秀規、先端巨大症における高トリグリセライド血症は耐糖能と血清 GH 値に関連する、第81回日本内分泌学会総会、平成20年5月16日、青森

④ 今中真理、成長ホルモンは C2C12 細胞において Mechano growth factor の発現を誘導し筋肉幹細胞を活性化する、第81回日本内分泌学会総会、平成20年5月16日、青森

⑤ 西澤衡、GH/IGF-1 は NASH モデルマウスにおける肝線維化を抑制する、第81回日本内分泌学会総会、平成20年5月16日、青森

⑥ 山本大輔、分岐鎖アミノ酸はデキサメサゾンによる筋萎縮を抑制する、第81回日本内分泌学会総会、平成20年5月16日、青森

[図書] (計6件)

① 高橋 裕 臨床症状：成長・発達障害 分担執筆 内科学書 (第7版) 2008

② 高橋 裕 全身倦怠と下垂体機能低下症 総合臨床 57482-486 2008

③ 高橋 裕 成人成長ホルモン分泌不全症と非アルコール性脂肪性肝炎 (トピックス) 最新医学 63 123-128 2008

④ 高橋 裕 New 専門医を目指す CASE METHOD

APPROACH 内分泌疾患 第1版 下垂体前
葉機能低下症 (無) 分担執筆 日本医事新
報社1-12 2007

⑤高橋 裕 内分泌代謝専門医ガイドブッ
ク 多尿 診断と治療社 19-20 2007

⑥高橋 裕 内分泌代謝専門医ガイドブッ
ク 肥満 診断と治療社 19-20 2007

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

①

名称: ヒトケマリンを用いた糖尿病治療応用

発明者: 高橋 裕

権利者: 神戸大学

種類: 特許権

出願番号: 特願2007-284268

出願日: 平成19年10月31日

国内・国外の別: 国内

②

名称: 糖尿病の診断法 (ヒトケマリン特異
的ELISAの樹立)

発明者: 高橋 裕

権利者: 神戸大学

種類: 特許権

特許出願: 特願2008-008265

出願日: 平成20年1月17日

国内・国外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 裕 (TAKAHASHI YUTAKA)

神戸大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号: 70301281

(2) 研究分担者

千原 和夫 (CHIHARA KAZUO)

神戸大学・大学院医学研究科・客員教授

研究者番号: 00107955

(3) 連携研究者

該当なし