

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 5 月 31 日現在

機関番号：12102  
研究種目：奨励研究  
研究期間：2019  
課題番号：19H00449  
研究課題名：時期特異的・肝臓特異的 CREBH 過剰発現マウスを用いた生活習慣病発症後の病態への影響  
研究代表者  
熊谷 佳絵 (KUMAGAI, Kae)  
筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・技術補佐員

交付決定額（研究期間全体）（直接経費）：540,000 円

研究成果の概要：本研究では生活習慣病を改善する転写因子 CREBH を肝臓で薬剤誘導性に過剰発現できるマウスを作製するために必要な薬剤誘導性の肝臓特異的 Cre 発現マウスを作製した。エストロゲンレセプター(ER)が内因性エストロゲンに応答しない変異体(ERT2)と Cre を融合した CreERT2 の上流に肝臓特異的遺伝子アルブミンのプロモーターを結合し cDNA を作製した。この cDNA をマウス受精卵に導入し、マウスを作製した。実際に目的通りの機能が発揮されるかについては今後、検討を進めていく。

## 研究成果の学術的意義や社会的意義

Albumin CreERT2 Tg マウスは現在、海外研究室で作製したものを限られた共同研究室との間でのみ使用している。そのため、日本で入手するには時間、コストがかかってしまう。作製中のマウスが完成すれば、日本国内で供給ができ、関連する研究の促進につながる。本研究対象である転写因子 CREBH を薬剤誘導(時期特異的)でしかも組織特異的に発現が調節できれば、生活習慣病の病態悪化、病態改善のメカニズムが明らかにでき、将来の新規治療薬開発につながる。

## 研究分野：代謝学

キーワード： CREBH、Albumin CreERT2 Tg マウス

## 1. 研究の目的

近年の日本では食生活の欧米化により生活習慣病患者が著しく増加している。この問題を解決するために栄養代謝に関わる遺伝子発現制御の解明が必須である。申請者が所属する研究室では新規の糖・脂質代謝調節転写因子として CREBH を同定し、その機能を解析している。現在までに CREBH が肝臓で脂質異常症治療薬の標的である転写因子 PPAR $\alpha$  を活性化すること、肥満・糖尿病の改善に寄与することも明らかにした(Nakagawa Endocrinology 2014)。本研究では生活習慣病になってから CREBH を過剰発現できるマウスが病態改善に向かうかを検討し、生活習慣病の治療に貢献できるかを目的とする。

## 2. 研究成果

CREBH を肝臓特異的に過剰発現するマウスを作製し現在まで解析を行い、肥満・糖尿病を抑制することを報告している(Nakagawa Endocrinology 2014)。しかしながら、このマウスでは時期特異的に発現を調節することができない。そのため、Cre-LoxP システムを使い、Cre が発現した際に活性化型 CREBH が過剰発現する CREBH floxTg マウスを作製し、肝臓で Cre を発現する Albumin Cre Tg マウスと交配した。このマウスは顕著な成長の遅れがみられている。

本課題では肝臓で薬剤(タモキシフェン)に反応して Cre を発現するマウス(Albumin CreERT2 マウス)を作製した。

Albumin CreERT2 マウスを作製に使用する DNA コンストラクトを作製した。肝臓特異的に発現させるためのアルブミンプロモーター領域、Cre 配列、薬剤で誘導するための ERT2 配列をつなげた cDNA を作製した。この cDNA をマウス受精卵に遺伝子導入したのち、仮親マウスに移植した。その後、マウスは出産し、97 匹の候補マウスを得た。これらマウスに目的遺伝子が挿入できているかをジェノタイピングし、34 匹のマウスに遺伝子が挿入できていることを確認した。

候補マウスと CREBH flox Tg マウス、CREBH flox KO マウスとをそれぞれ交配し、Albumin CreERT2 を発現する CREBH flox Tg/KO マウスを作製した。現在、タモキシフェンをマウスに投与し、薬剤誘導でしかも、肝臓特異的に遺伝子操作ができるかを確認している。

### 3. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

- ① Satoh A, Han SI, Araki M, Nakagawa Y, Ohno H, Mizunoe Y, Kumagai K, Murayama Y, Osaki Y, Iwasaki H, Sekiya M, Konishi M, Itoh N, Matsuzaka T, Sone H, Shimano H, CREBH Improves Diet-Induced Obesity, Insulin Resistance, and Metabolic Disturbances by FGF21-Dependent and FGF21-Independent Mechanisms, *iScience*, 査読有, 23(3), 2020, DOI: 10.1016/j.isci.2020.100930

〔その他〕

ホームページ

<https://www.u-tsukuba-endocrinology.jp/>

### 4. 研究組織

研究協力者

研究協力者氏名：中川 嘉

※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。