

自己評価報告書

平成 23 年 3 月 25 日現在

機関番号：32653
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2008～2011
 課題番号：20591637
 研究課題名（和文） 膵細胞および脂肪前駆細胞の分化・機能調節に関わる転写因子の検討
 研究課題名（英文） Reserch of large maf transcription factors on pancreatic cell and preadipocyte differentiation
 研究代表者
 土谷 まり子 (TSUCHIYA MARIKO)
 東京女子医科大学・医学部・准教授
 研究者番号：00266826

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：siRNA, mafA, mafB, c-maf, microarry, インスリン、転写因子

1. 研究計画の概要

基礎は膵内分泌細胞の分化 lineage における転写因子の profile の変化であり、4つの転写因子で細胞の初期化がおこるように、遺伝子の発現をきめる転写因子の組み合わせで、分化の方向性や生体の反応性が決まる。分化の様式は発生の際に獲得した記憶で、これが生体の危機や再生時に発動されると考えられるので、発生時の転写カスケードと対比しながら、インスリンの発現調節をする転写因子である mafA を追跡することにより、代謝にリンクする転写因子のネットワーク、クロストークを検討していく。細胞間のクロストークあるいは臓器間のネットワークを制御する転写因子の検討は必ずや治療のターゲットポイントやマーカーとなるはずで、臨床に有用な情報である。

2. 研究の進捗状況

siRNA による large maf (mafA, mafB, c-maf) mRNA の抑制系の in vivo における変化：microarray による検討

(1) 膵

in vivo mafA siRNA の pancreas における結果から adipocytokine の変化とリンクがみられ、細胞間のクロストークが示唆された。膵内分泌細胞の分化に関わる転写因子は、脂肪細胞の代謝、分化に関わることが示された (Int. J. Mol. Med. 2009)。生体でも膵内の脂肪細胞あるいは膵周囲の脂肪組織とのクロストークのひとつのパターンと考えられる。

(2) 脳

脳の代謝の特性として、ブドウ糖の利用は最重要の経路であり、インスリンの転写因子で

ある mafA の関与は必須である。mafA siRNA による抑制系の Maicroarray によるプロファイルでは著明な変化が起こった (Int. J. Biomed. Sci. 2011 in press)。転写因子による臓器間のネットワークが示される。

(3) 腎

mafB c-maf siRNA による microarray の腎での解析では、mafB, c-maf とも共通のプロファイルが見られることが確認され、転写調節の redundancy が示唆される。Large maf family としての共通構造、認識構造は、シグナルに対して、強調あるいは拮抗して生体の反応性を制御する機構が示唆される。

(4) AsPC-1, BxPC3 pancreatic cancer cell line

mafB siRNA により、mafB mRNA の発現の変化に伴い、e-cad, b-catenin の発現変化と、GSK3b の細胞内分布（細胞質から核内の移行）に変化がみられることがわかり、これにつながる signal cascade として、WNT cascade がリンクしている可能性が示される。

このように転写因子が、細胞間のクロストーク、臓器間のネットワーク、シグナルカスケードにかかわり、制御を及ぼしていることが観察され、其の機構は large maf 間、その他の因子や機構と関わり、発生時の転写因子の profile との類似性があることも示された。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している

in vivo siRNA の確立で、臓器内、臓器間の転写プロファイルの検討については、生体の反応に近い反応を示唆するのでも、定量的な精度に不足があるものの一定の成果があった

と考える。研究成果に示すような形で、まとめることができた。しかし今後の展開としては下記に述べるような、新しい方法や展開が必要と考えられる。

4. 今後の研究の推進方策

(1) mRNA の定量は realtime PCR で行っているが、定量性には偏りがある。シグナルカスケードの総和、重なりとして、生体の反応の方向性がきまり、増殖、再生、癌化のターニングポイントになりうるので、経時的なプロファイルの定量的な確認方法が必要と考えられる。転写のネットワークが解析できる精度の定量方法として、direct sequence を検討予定としている。

(2) 転写のプロファイルは、細胞ひとつひとつ違うので、その差を追跡できる方法として、マーカーやセンサーの設定が必要。経時的に、細胞一つ一つの変化が追跡できるようにマーカーを経時的に可視化できる方法や、物理的なセンサーによる計測で細胞移動などの動的な変化を計測できるようテンションセンサーの設定を検討中。

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 2 件)

1. Mariko Tsuchiya, Ken Tsuchiya, Kazuki Yasuda, Mikiko Fujita, Akira Takinishi, Maiko Furukawa, Kosaku Nitta and Atsushi Maeda MafA is a key molecule in glucose and energy balance in the central nervous system and peripheral organs. Int. J. Biomed. Sci. in press. 2011 査読あり
2. Mariko Tsuchiya, Atsushi Maeda, Ayume Suzuki, Kazuki Yasuda, Takumi Yoshida, Kosaku Nitta and Ken Tsuchiya Supression of MafA mRNA with siRNA prevents adipose cell differentiation in 3T3-L1 cells Int. J. Mol. Med. 23:725-732, 2009 査読あり

[学会発表] (計 4 件)

1. Mariko Tsuchiya Transcription factor mafB is implicated in regulation of expression of lipocalin2 and EMT-related genes as well as genes composing of developing pancreas. 70th scientific session of American Diabetic Association 25-29/06/2010, Orland, FL
2. Mariko Tsuchiya MafA is a key molecule

in glucose and energy balance in the central nervous system as in the peripheral organs. 69th scientific sessions of American Diabetic Association 5-9/06/2009, New Orleans, LA

3. Mariko Tsuchiya Functional role of transcription factor of mafB in vivo assessed by siRNA technique and microarray analysis. 29-02/09-10/2009, Viena
4. Mariko Tsuchiya Supression of mafA mRNA attenuates morphology and functions of adipocyte differentiation by 3T3-L1 cells. 68th scientific sessions of American Diabetic Association 6-10/06/2008, San Francisco, CA