

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 6月 10日現在

機関番号：16101  
 研究種目：挑戦的萌芽研究  
 研究期間：2011～2012  
 課題番号：23650481  
 研究課題名（和文） 食生活リズムの乱れから発症する生活習慣病における小胞体ストレス応答経路の役割  
 研究課題名（英文） Role of endoplasmic reticulum stress response in lifestyle diseases caused by unhealthy diet  
 研究代表者  
 親泊 政一（OYADOMARI SEIICHI）  
 徳島大学・疾患プロテオゲノム研究センター・教授  
 研究者番号：90502534

### 研究成果の概要（和文）：

体内時計の変調は、時差ぼけだけでなく生活習慣病の発症にも関連することが指摘されている。一方、食生活リズムの乱れは体内時計を乱す原因となるが、その分子メカニズムには未だ不明な点がある。本研究では、食餌摂取により小胞体ストレス応答経路の一つである PERK 経路の活性化により、肝臓での末梢の体内時計遺伝子の発現が調節できることが明らかにし、eIF2 $\alpha$  リン酸化は肝臓での糖脂質代謝と体内時計を共役する働きがあることを見出した。

### 研究成果の概要（英文）：

Dysfunction of the circadian clock not only causes jet lag but also exacerbates metabolic diseases. Inadequate food intake leads to disturb circadian rhythm but little is known about the molecular mechanism of this relationship. Our study show that hepatic PERK-eIF2 $\alpha$  signaling is activated by food intake and can regulate the expression of circadian factor genes. We postulate that the ER stress response could serve to link physiologic perception of the environment to the circadian oscillatory apparatus.

### 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：体内時計、小胞体ストレス応答、PERK、eIF2 $\alpha$  リン酸、食生活リズム

### 1. 研究開始当初の背景

#### (1) 食生活リズムの乱れと生活習慣病発症

体内時計は、時差ぼけだけでなく、糖尿病などの生活習慣病の発症にも関連が指摘され、社会問題となっている。朝食を抜いたり、夜食を取ったりといった食生活リズムの乱れは、

体内時計を乱す原因となるが、その分子メカニズムには未だ不明な点がある。

#### (2) 小胞体ストレス応答による代謝制御

小胞体は合成したタンパク質の折り畳みの不全（小胞体ストレス）を感知して、それに適応する機構（小胞体ストレス応答）を持つ。申請者は、小胞体ストレス応答の破綻が、生活習慣病

である糖尿病の発症させることを世界に先駆けて報告してきた (PNAS (2001) 98 10845-10850, JCI (2002) 109 525-532, Cell (2006) 126 727-739, Cell Metabolism (2008) 7 520-532)。

## 2. 研究の目的

食生活リズムの乱れは生活習慣病の発症に繋がることが知られているが、その分子メカニズムは明らかではない。申請者は、食事による体内時計のリセットに、これまで報告が皆無な小胞体からのシグナルが関与する可能性を最近見出した。本研究では、小胞体ストレス応答シグナルを介した摂食による末梢時計の同調の分子メカニズムを明らかにすることで、食生活リズムの乱れから発症する生活習慣病の予防に臨床応用できる研究基盤の確立を目指した。

## 3. 研究の方法

本研究は、申請者が最近発見した eIF2 $\alpha$  リン酸化シグナルによる時計遺伝子の変動を基に、末梢時計同調の新たなメカニズムとしての小胞体からのシグナル制御の可能性を研究し、食生活リズムの乱れから発症する生活習慣病における小胞体ストレス応答経路の役割を明らかにすることが目的である。具体的には以下の研究項目を実施した。

(1) 小胞体ストレス応答シグナルを介した摂食による体内時計遺伝子発現調節

- 申請者が樹立した小胞体ストレス応答シグナルを制御できるマウスを用いた個体解析
- 申請者が保持する小胞体ストレス応答欠損細胞などを用いた分子生物学的解析

(2) 糖尿病など病態モデルにおける eIF2 $\alpha$  リン酸化シグナルの末梢時計遺伝子同調因子としての意義を検証

## 4. 研究成果

(1) 肝臓においてPERK経路を活性化させると体内時計遺伝子の発現が変動する

人工的なりガンド用量依存的に肝臓でPERK経路のみを活性化することができるトランスジェニックマウス(肝特異的PERK TGマウス)を作製し、体内時計を制御することが知られている20遺伝子の発現を解析したところ、PERKにより半数近くが誘導を認めた。

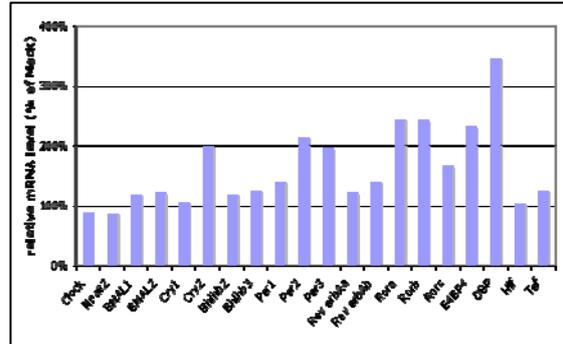


図1 PERK経路活性化による体内時計遺伝子発現

(2) 食餌による末梢時計の制御の解析法

肝特異的PERK TGマウスにおいて、中枢時計の影響を排除して、食餌摂取による体内時計調節やPERK経路活性化による末梢時計への影響を検討するために、以下のように食事の時間と明暗を調節した環境でマウスを飼育した。

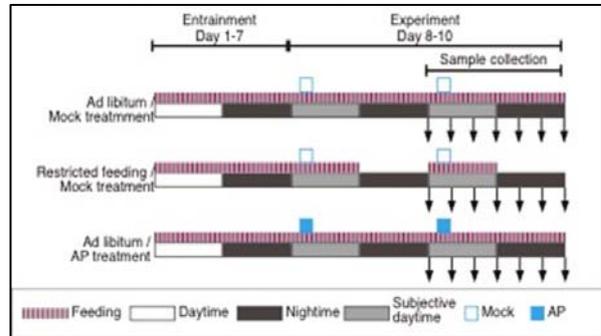


図2 食餌制限とPERK活性化のプロトコール

(3) 肝臓でPERK経路を活性化すると食餌摂取と同様に末梢時計を調節できる

肝特異的PERK TGマウスにおいて、(2)で示したように食餌制限やAP20187刺激したマウスから肝臓サンプル採取し、体内時計と代謝関連遺伝子の変動を定量的RT-PCR法にて解析を行った。その結果、PERK経路により末梢の体内時計遺伝子の発現が制御されていることを見出した。

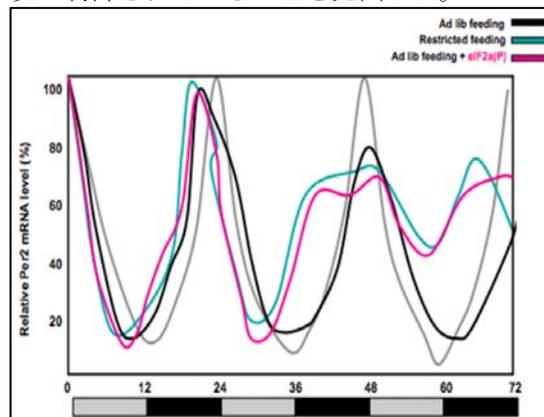


図3 PERK活性化によるPer2遺伝子発現変化

(4) 肝臓における摂食による末梢時計の制御モデル

以上の結果から、食餌摂取で活性化される PERKは、eIF2 $\alpha$ のリン酸化を介して、肝臓での末梢時計を制御すると考えられた。

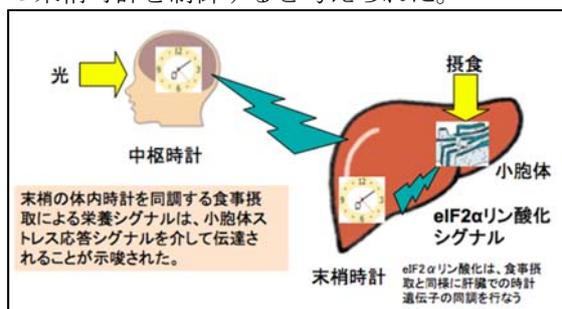


図4 本研究で明らかになった制御モデル

## 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5件)

- ① Kozuka C, Oyadomari S (他13名、12番目) Brown Rice and Its Component,  $\gamma$ -Oryzanol, Attenuate the Preference for High-Fat Diet by Decreasing Hypothalamic Endoplasmic Reticulum Stress in Mice. *Diabetes*, 査読有, 61, 2012 3084-93, doi:10.2337/db11-1767
  - ② Morotomi-Yano K, Oyadomari S (他2名、2番目) Nanosecond pulsed electric fields act as a novel cellular stress that induces translational suppression accompanied by eIF2 $\alpha$  phosphorylation and 4E-BP1 dephosphorylation. *Exp Cell Res*, 査読有, 318, 2012 1733-1744, doi:10.1016/j.yexcr.2012.04.016
  - ③ Sato T, Oyadomari S (他14名、15番目) CHOP deletion does not impact the development of diabetes but suppresses the early production of insulin autoantibody in the NOD mouse. *Apoptosis*, 査読有, 16, 2011 438-448, doi:10.1007/s10495-011-0576-2.
  - ④ Gao J, Oyadomari S (他12名、11番目) Involvement of Endoplasmic Stress Protein C/EBP Homologous Protein in Arteriosclerosis Acceleration With Augmented Biological Stress Responses, *Circulation*, 査読有, 124 2011, 830-839, doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.110.014050.
  - ⑤ Birkenfeld AL, Oyadomari S (他16名、15番目) Influence of the hepatic eukaryotic initiation factor 2alpha (eIF2alpha) endoplasmic reticulum (ER) stress response pathway on insulin-mediated ER stress and hepatic and peripheral glucose metabolism. *J Biol Chem*, 査読有, 286, 2011, 36163-36170, doi:10.1074/jbc.M111.228817.
- [学会発表] (計18件)
- ① Chisayo Kozuka et.al. Gamma-oryzanol, a major component of brown rice, improves feeding behavior by decreasing hypothalamic endoplasmic reticulum stress in mice. 第90回日本生理学会, 2013年03月28日, タワーホール船堀 (東京都)
  - ② 倉橋 清衛 他, 飽和脂肪酸による膵 $\beta$ 細胞のインスリン分泌低下には小胞体膜流動性の変化による小胞体ストレスが関与し、PERK経路の活性化により改善される 第85回日本生化学会大会, 2012年12月16日, 福岡国際会議場 (福岡県)
  - ③ 野村 明利 他, 小胞体ストレスなどにより活性化される PERK-eIF2 $\alpha$  リン酸化シグナルによる脂肪細胞機能調節の解明, 第85回日本生化学会大会, 2012年12月16日, 福岡国際会議場 (福岡県)
  - ④ 佐藤 亮祐 他, FGFR3 遺伝子異常による軟骨異形成症における小胞体ストレスの関与, 第85回日本生化学会大会, 2012年12月16日, 福岡国際会議場 (福岡県)
  - ⑤ 高原 一菜 他, DSS 誘発性大腸炎モデルを用いた ATF6 $\alpha$  と ATF6 $\beta$  の機能解析, 第85回日本生化学会大会, 2012年12月16日, 福岡国際会議場 (福岡県)
  - ⑥ 三宅 雅人 他, 骨格筋における小胞体ストレスなどからの eIF2 $\alpha$  リン酸化はエネルギー消費を制御して食事性肥満を防ぐ, 第85回日本生化学会大会, 2012年12月16日, 福岡国際会議場 (福岡県)
  - ⑦ 三宅 雅人 他, 骨格筋での小胞体ストレスなどによる eIF2 $\alpha$  リン酸化はエネルギー消費を増大させて肥満を抑制する, 第24回分子糖病学シンポジウム, 2012年12月08日, 品川インターシティ (東京都)
  - ⑧ 三宅 雅人 他, 骨格筋での小胞体ストレスなどによる eIF2 $\alpha$  リン酸化はエネルギー消費を増大させて肥満を抑制する, 第7回臨床ストレス応答学会大会, 2012年11月24日, 東京女子医科大学弥生記念講堂 (東京都)
  - ⑨ 三宅 雅人 他, 骨格筋での小胞体ストレスなどからの eIF2 $\alpha$  リン酸化によるエネルギー消費の制御と抗肥満作用, 第7回小胞体ストレス研究会, 2012年11月09日, 広島大学医学部 (広島県)
  - ⑩ 親泊 政一, 小胞体ストレス応答を標的とした創薬, *Bio Japan* 2012, 2012年10月10日, パシフィコ横浜 (神奈川県)

- ⑪ 親泊 政一, miRNA を介した小胞体ストレス応答による代謝制御—非古典的小胞体ストレス応答—, *Diabetes Scientific Meeting in Kanazawa* (招待講演), 2012年07月26日, ホテル日航金沢 (石川県)
- ⑫ 親泊 政一, miRNA を介した小胞体ストレス応答制御機構と非古典的小胞体ストレス応答, 第12回日本NO学会学術集会 (招待講演)2012年06月29日, 神戸国際会議場 (兵庫県)
- ⑬ 親泊 政一, miRNA を介した小胞体ストレス応答はグルコース応答性のインスリン分泌に重要である, 第55回日本糖尿病学会学術集会, 2012年05月19日, パシフィコ横浜 (神奈川県)
- ⑭ 倉橋 清衛 他, 膵β細胞におけるグルコース応答性インスリン分泌低下に小胞体膜の流動性変化と小胞体ストレス応答が影響する, 第55回日本糖尿病学会学術集会, 2012年05月17日, パシフィコ横浜 (神奈川県)
- ⑮ 親泊 政一, miRNA を介した小胞体ストレスによる代謝制御—非古典的小胞体ストレス応答—. 第5回 東京糖尿病治療フォーラム (招待講演), 2012年04月27日, 東京会館 (東京都)
- ⑯ 親泊 政一, miRNA を介した小胞体ストレス応答はグルコース応答性インスリン分泌に重要である, 第85回日本内分泌学会学術総会, 2012年04月20日, 名古屋国際会議場 (愛知県)
- ⑰ 伊藤 太二 他, miRNA を介した小胞体ストレス応答はグルコース応答性インスリン分泌に影響する, 第85回日本内分泌学会学術総会, 2012年04月19日, 名古屋国際会議場 (愛知県)
- ⑱ 親泊 政一, 小胞体ストレスと糖尿病, 第84回日本内分泌学会学術総会 (招待講演), 2011年4月21日, 神戸国際会議場 (兵庫県)

[その他]

ホームページ等

<http://www.genome.tokushima-u.ac.jp/dmb/DMB/homu.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

親泊 政一 (OYADOMARI SEIICHI)

徳島大学・疾患プロテオゲノム研究センター・教授

研究者番号 : 90502534

(2) 研究分担者 ( )

研究者番号 :

(3) 連携研究者 ( )

研究者番号 :