

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 24 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26560392

研究課題名(和文) 肝臓内グリコーゲンセンサーの分子同定

研究課題名(英文) Identification of glycogen sensor in the liver

研究代表者

矢作 直也 (Yahagi, Naoya)

筑波大学・医学医療系・准教授

研究者番号：60420246

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：我々は最近、飢餓時に肝臓が自律神経系(副交感神経系ならびに交感神経系)を介したシグナルを送ることで、肝臓内グリコーゲン枯渇時に体内のエネルギー源をグリコーゲンから脂肪へ切り替えるのを助けていることを発見し、論文発表した(Nature Commun. 2013)。本研究では、次の目標として、我々が発見した「肝臓内グリコーゲンセンサー」の分子実体を明らかにすることに挑戦した。

本研究の結果、発現量が肝臓内グリコーゲン含有量と正の相関を示し、「肝臓内のグリコーゲンセンサー」の候補分子の可能性を持つ遺伝子を複数、見出すことが出来た。

研究成果の概要(英文)：We recently found that glycogen shortage during fasting triggers liver-brain-adipose neurocircuitry to facilitate fat utilization (Nature Commun. 2013). In the current study, we tried to identify the glycogen sensor in the liver. Through transcriptome analyses, we found several candidate genes of these glycogen sensors.

研究分野：代謝学、栄養学、分子生物学

キーワード：エネルギー代謝 栄養

1. 研究開始当初の背景

(1) Liver-Brain-Adipose neurocircuitry による飢餓応答システム

我々は最近、飢餓時に肝臓から迷走神経を介して「飢餓シグナル」が中枢神経系へ送られ、そこから交感神経遠心路を通じて脂肪細胞が刺激されて脂肪分解が生じることを明らかにし、論文報告した(Izumida Y, Yahagi N, et al. Glycogen shortage during fasting triggers liver-brain-adipose neurocircuitry to facilitate fat utilization. Nature Commun. 4:2316, 2013.)。この Liver-Brain-Adipose neurocircuitry の存在自体は東北大学の片桐らによって 2006 年に世界で初めて報告され、注目されてきたが(Uno K, Katagiri H, et al. science 2006)、我々はこの神経回路の生理的役割が飢餓時に脂肪組織からの脂肪動員を促すしくみであることを明らかにした。

(2) 肝臓のグリコーゲンセンサーの正体とは？

上記の論文において、我々は、グリコーゲン合成酵素(Gys2)を肝臓に予め過剰に発現させてグリコーゲン貯蔵量を増やしておくことと飢餓シグナルが減弱すること、逆に Gys2 のノックダウンでグリコーゲン量を減らすと飢餓シグナルが増強することを見出した。さらに、グリコーゲンホスホリラーゼ遺伝子(Pygl)のノックダウン実験を行い、グリコーゲン分解を抑制してみたところ、グリコーゲン分解の抑制によるグリコーゲン量の増加に伴って飢餓シグナルは減弱し、グリコーゲンの下流の代謝物量ではなく、グリコーゲン量そのものが重要であることが示された。

これらのことから、肝臓内のグリコーゲン量の減少が飢餓シグナル発信のトリガーになることが証明されたが、では、「肝臓内グリコーゲンセンサー」の正体とは何であるか？ということが次の課題となった。本研究ではまさにこの課題にチャレンジする。

2. 研究の目的

我々は最近、飢餓時に肝臓が自律神経系を介したシグナルを送ることで、体内のエネルギー源をグリコーゲンから脂肪へ切り替えるのを助けていることを発見し、論文発表した(Nature Commun. 2013)。この飢餓時の神経シグナルは肝臓内のグリコーゲン量そのものを反映し、グリコーゲンが枯渇した際に発せられる。

そこで本研究では、次の目標として、我々が発見した「肝臓内グリコーゲンセンサー」の分子実体を明らかにすることに挑戦する。

3. 研究の方法

(1) グリコーゲンセンサー候補分子の絞り

込み

新規グリコーゲンセンサー候補の分子の探索を行う。

具体的には、これまでの研究の過程で活用してきた、遺伝子改変アデノウイルスを用いて、肝臓のグリコーゲン合成酵素またはグリコーゲンホスホリラーゼの発現量を大きく変化させ、肝臓内グリコーゲン量をダイナミックに増減させた際に、肝臓内のグリコーゲン含有量の変化を受けて、それと関連する発現変動を示す遺伝子を探索する目的で、DNA マイクロアレイ法を用いたスクリーニングを実施する。

(2) グリコーゲンセンサー候補分子に対する Liver-Brain-Adipose neurocircuit assay

上記の探索により見つかった多くの候補分子に対して、グリコーゲンセンサー分子としての適格性の検証を Liver-Brain-Adipose neurocircuit assay により行う。この方法は、Liver-Brain-Adipose neurocircuitry をそのまま活用し、肝臓側(INPUT)のセンサー候補分子をノックダウンで消失させた際に、グリコーゲン枯渇シグナルが消失し、脂肪側(OUTPUT)の脂肪分解が抑制されるかどうか？を指標にアッセイを行う。

4. 研究成果

本研究において、肝臓のグリコーゲン合成酵素またはグリコーゲンホスホリラーゼの発現量を大きく変化させ、肝臓内グリコーゲン量をダイナミックに増減させた際に、肝臓内のグリコーゲン含有量の変化を受けて、それと関連する発現変動を示す遺伝子を探索する目的で、DNA マイクロアレイ法を用いたスクリーニングを実施したところ、発現量が肝臓内グリコーゲン含有量と正の相関を示し、「肝臓内のグリコーゲンセンサー」の候補分子の可能性を持つ遺伝子を複数、見出すことが出来た。

また、グリコーゲンセンサー候補としての可能性の論文報告が既にある AMP kinase に関し、検証実験を行ったが、脂肪組織の脂肪分解と肝臓の AMP kinase とはリンクしていないという結果であり、我々が探している分子ではないことが判明した。

肝臓内グリコーゲンセンサーの実体が解明されれば、そのシグナル伝達系を人為的に操作することで脂肪蓄積(肥満)を制御できるようになる理論的可能性が開かれる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

Shikama A, Shinozaki H, Takeuchi Y,

Matsuzaka T, Aita Y, Murayama T, Sawada Y, Piao X, Toya N, Oya Y, Takarada A, Masuda Y, Nishi M, Kubota M, Izumida Y, Nakagawa Y, Iwasaki H, Kobayashi K, Yatoh S, Suzuki H, Yagyu H, Kawakami Y, Yamada N, Shimano H, Yahagi N: Identification of human ELOVL5 enhancer regions controlled by SREBP. *Biochem Biophys Res Commun.* 465:857-63, 2015. 査読有り

Kuba M, Matsuzaka T, Matsumori R, Saito R, Kaga N, Taka H, Ikehata K, Okada N, Kikuchi T, Ohno H, Han SI, Takeuchi Y, Kobayashi K, Iwasaki H, Yatoh S, Suzuki H, Sone H, Yahagi N, Arakawa Y, Fujimura T, Nakagawa Y, Yamada N, Shimano H: Absence of Elovl6 attenuates steatohepatitis but promotes gallstone formation in a lithogenic diet-fed Ldlr(-/-) mouse model. *Sci Rep.* 5:17604, 2015. 査読有り

Horie T, Nishino T, Baba O, Kuwabara Y, Nakao T, Nishiga M, Usami S, Izuhara M, Nakazeki F, Ide Y, Koyama S, Sowa N, Yahagi N, Shimano H, Nakamura T, Hasegawa K, Kume N, Yokode M, Kita T, Kimura T, Ono K: MicroRNA-33b knock-in mice for an intron of sterol regulatory element-binding factor 1 (Srebf1) exhibit reduced HDL-C in vivo. *Sci Rep.* 4:5312, 2014. 査読有り

Nakagawa Y, Satoh A, Yabe S, Furusawa M, Tokushige N, Tezuka H, Mikami M, Iwata W, Shingyouchi A, Matsuzaka T, Kiwata S, Fujimoto Y, Shimizu H, Danno H, Yamamoto T, Ishii K, Karasawa T, Takeuchi Y, Iwasaki H, Shimada M, Kawakami Y, Urayama O, Sone H, Takekoshi K, Kobayashi K, Yatoh S, Takahashi A, Yahagi N, Suzuki H, Yamada N, Shimano H: Hepatic CREB3L3 controls whole-body energy homeostasis and improves obesity and diabetes. *Endocrinology* 155:4706-19, 2014. 査読有り

〔学会発表〕(計 16 件)

矢作直也、武内謙憲、西真貴子、志鎌明人、戸谷直樹、沢田義一、村山友樹、和田亘弘、李恩旭、朴賢英、會田雄一、大屋友華里、古賀俊介、宝田亜矢子、升田紫、久保田みどり、泉田欣彦：摂食・絶食サイクルの転写調節機構
BMB2015(第 38 回日本分子生物学会年会・第 88 回日本生化学会大会合同大会)(2015 年 12 月 1~4 日、神戸ポートピアホテル(兵庫県神戸市))

升田紫、矢作直也、武内謙憲、沢田義一、朴賢英、會田雄一、戸谷直樹、大屋友華里、志鎌明人、西真貴子、久保田みどり、泉田欣彦、飯塚陽子、位高啓史、片岡一則、山田信博、島野仁、門脇孝：多価不飽和脂肪酸(PUFA)による SREBP-1 特異的な抑制機序の解明
第 58 回日本糖尿病学会年次学術集会(2015 年 5 月 21~24 日、海峡メッセ下関(山口県下関市))

西真貴子、矢作直也、武内謙憲、志鎌明人、戸谷直樹、大屋友華里、朴賢英、會田雄一、沢田義一、松坂賢、中川嘉、升田紫、泉田欣彦、飯塚陽子、山田信博、門脇孝、島野仁：脂肪組織における in vivo Ad-luc 法による fatty acid synthase のプロモーター解析
第 58 回日本糖尿病学会年次学術集会(2015 年 5 月 21~24 日、海峡メッセ下関(山口県下関市))

矢作直也：ランチョンセミナーLS08：セルフケアと健康寿命 2015：「糖尿病診断アクセス革命」から「検体測定室」の誕生へ
日本薬学会第 135 年会(2015 年 3 月 25~28 日、神戸学院大学(兵庫県神戸市))

戸谷直樹、矢作直也、武内謙憲、西真貴子、沢田義一、朴賢英、會田雄一、大屋友華里、志鎌明人、松坂賢、中川嘉、升田紫、久保田みどり、泉田欣彦、門脇孝、山田信博、島野仁：Leptin 遺伝子発現調節機構の in vivo Ad-luc 解析
第 37 回日本分子生物学会年会(2014 年 11 月 25~27 日、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市))

大屋友華里、矢作直也、武内謙憲、西真貴子、志鎌明人、戸谷直樹、沢田義一、朴賢英、會田雄一、升田紫、久保田みどり、泉田欣彦、山本隆史、松坂賢、中川嘉、位高啓史、片岡一則、永井良三、山田信博、門脇孝、島野仁：SPINACH 蛍光 RNA アプタマーを用いたノックダウン効率の簡易測定法の開発
第 37 回日本分子生物学会年会(2014 年 11 月 25~27 日、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市))

煙山紀子、松坂賢、中川嘉、矢作直也、山田信博、島野仁：NASH の発症に対する EPA、DHA の効果の比較検討
第 35 回日本肥満学会(2014 年 10 月 24~25 日、フェニックスシーガイアリゾート コンベンションセンター(宮崎県宮崎市))

堀江貴裕、桑原康秀、馬場理、西野共達、中尾哲史、西賀雅隆、宇佐美俊輔、出原正康、矢作直也、島野仁、横出正之、北徹、木村剛、尾 亘：マイクロ RNA-33 による脂質代謝制御機構の解明

第 46 回日本動脈硬化学会総会・学術集会
(2014 年 7 月 10~11 日、京王プラザホテル
(東京都新宿区))

志鎌明人, 矢作直也, 武内謙憲、西真貴子、
升田紫、久保田みどり、泉田欣彦、松坂賢、
中川嘉、矢藤繁、鈴木浩明、山田信博、島野
仁：摂食による Malic enzyme 1 遺伝子の転
写調節機構の in vivo Ad-luc と TFEL scan
解析

第 46 回日本動脈硬化学会総会・学術集会
(2014 年 7 月 10~11 日、京王プラザホテル
(東京都新宿区))

矢作直也：ランチョンセミナー：n-3 系脂
肪酸による脂質異常症治療 ~SREBP-1 特異
的な抑制メカニズム~

第 46 回日本動脈硬化学会総会・学術集会
(2014 年 7 月 10~11 日、京王プラザホテル
(東京都新宿区))

武内謙憲、矢作直也、西真貴子、志鎌
明人、大屋友華里、戸谷直樹、升田紫、久
保田みどり、泉田欣彦、山本隆史、松坂
賢、中川嘉、位高啓史、片岡一則、永井
良三、山田信博、門脇孝、島野仁：KLF15
の新機能-糖代謝と脂質代謝の新たな接点-

第 57 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2014
年 5 月 22~24 日、大阪国際会議場(大阪府))

泉田欣彦、矢作直也、武内謙憲、山田
哲也、西真貴子、升田紫、久保田みどり、
志鎌明人、宝田亜矢子、高梨幹生、高瀬
暁、岡崎佐智子、飯塚陽子、岡崎啓明、塩
田清二、位高啓史、片岡一則、新島旭、
片桐秀樹、岡芳知、山田信博、島野仁、門
脇孝：糖と脂質 - 神経によるエネルギー供給
源の新たなスイッチング・メカニズム

第 57 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2014
年 5 月 22~24 日、大阪国際会議場(大阪府))

西真貴子、矢作直也、武内謙憲、志鎌
明人、宝田亜矢子、松坂賢、中川嘉、嶋
田昌子、升田紫、久保田みどり、泉田欣彦、
飯塚陽子、山田信博、島野仁、門脇孝：
脂肪組織における in vivo Ad-luc 法による
fatty acid synthase のプロモーター解析

第 57 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2014
年 5 月 22~24 日、大阪国際会議場(大阪府))

志鎌明人、武内謙憲、西真貴子、戸谷直
樹、大屋友華里、宝田亜矢子、升田紫、久
保田みどり、泉田欣彦、松坂賢、中川嘉、
嶋田昌子、岩崎仁、小林和人、矢藤繁、鈴
木浩明、山田信博、門脇孝、島野仁、矢
作直也：apoE 遺伝子プロモーターの TFEL
scan 解析

第 57 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2014
年 5 月 22~24 日、大阪国際会議場(大阪府))

矢作直也、島野仁：異所性脂肪の概念と臨
床展開 - 肝臓 -

第 87 回日本内分泌学会学術総会(2014 年 4 月
24~26 日、福岡国際会議場(福岡県福岡市))

泉田欣彦、矢作直也、武内謙憲、山田哲也、
西真貴子、升田紫、久保田みどり、位高啓史、
片岡一則、片桐秀樹、島野仁、門脇孝：飢餓
において神経が肝貯蔵グリコーゲン減少を
感知して脂肪酸系エネルギー利用を促す
第 51 回日本臨床分子医学会学術集会(2014 年
4 月 11~12 日、東京国際フォーラム(東京都
千代田区))

〔その他〕

ホームページ

<http://metab.umin.ne.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

矢作 直也 (YAHAGI, Naoya)

筑波大学・医学医療系・准教授

研究者番号：60420246