

令和 3 年 5 月 14 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06962

研究課題名（和文）栄養と炎症を直結するシグナル伝達経路の糖尿病への関与の解明

研究課題名（英文）Analysis of mTORC1-FOXK1 axis in lifestyle-related diseases

研究代表者

中津海 洋一（NAKATSUMI, Hirokazu）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（薬学）・講師

研究者番号：20596837

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：生活習慣病とがんには類似点がある。1点目は慢性炎症状態であること、2点目はTORC1の異常活性化が観察されることである。これらの類似点からmTORC1下流で活性化する転写因子FOXK1が、生活習慣病とがんを促進するという仮説を立て、遺伝子欠損マウスを用いた検証を行ったところ、FOXK1の糖尿病への関与は見出されなかったものの、脂肪肝と関連する炎症、線維症、および腫瘍形成を改善しマウスの生存率を改善することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生活習慣病、特に非アルコール性脂肪性肝炎の患者数は増加傾向にあり、アルコール性・ウイルス性肝炎が減少傾向にあることと対照的である。治療法の確立は急務であるが、現在は減量を基本とした治療法以外は存在しない。本研究では、非アルコール性脂肪性肝炎の新たな治療ターゲットとしてFOXK1を見出した。FOXK1を標的とした薬剤の開発は脂肪肝と関連する炎症、線維症、および腫瘍形成を抑制する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：There are two similarities between lifestyle-related diseases and cancer. The first point is that they are in a chronic inflammatory state, and the second point is that abnormal activation of mTORC1 is observed. Based on these similarities, we hypothesized that the transcription factor FOXK1, which is activated downstream of mTORC1, promotes both of lifestyle-related diseases and cancer. We identified that FOXK1 deficient mice were improved fatty liver-related inflammation, fibrosis, and tumorigenesis.

研究分野：栄養応答

キーワード：mTORC1 脂肪肝 糖尿病

## 1. 研究開始当初の背景

動脈硬化・糖尿病・がんが代表される現代病の多くは、慢性炎症に何らかの関連があると言われている。慢性炎症はこれらの疾患の発症に対して促進的に働くと考えられており、そのシグナル伝達機構を明らかにすることは極めて重要なテーマである。これまでに様々な知見の蓄積があるが、その多くは急性炎症の重要シグナルを慢性炎症モデルに外挿して得られた知見がほとんどである。しかしながら急性炎症と慢性炎症では病態が大きく異なる。特に慢性炎症では浸潤免疫細胞の大部分がマクロファージであるという点、その炎症は微弱であるものの自然には瓦解しない点、非感染環境下で主に惹起されるという点が大きな特徴である。ゆえに慢性炎症に特有の分子メカニズムの存在は長らく予想されてきたが、未だその同定には至っていなかった。

申請者はこれまでに、質量分析計を用いた超高感度リン酸化プロテオミクス的手法を用いて細胞内シグナル伝達の大規模解析を行ってきた。その中で mTORC1 の活性によって制御される分子として 50 を超えるリン酸化分子を同定した。中でも転写因子である FOXK1 に着目して解析を行った結果、mTORC1-FOXK1 経路の下流で誘導される遺伝子として MCP-1/CCL2 を同定した (Nakatsumi *et al. Cell Reports*, 2017)。この結果は「栄養応答のマスター因子である mTORC1 が、慢性炎症の中心分子である MCP-1 の発現を制御する」ことを示している (図 1)。がん・糖尿病を含めた慢性炎症疾患の多くは mTORC1 が異常活性化状態にあり、また MCP-1 の発現上昇によるマクロファージ浸潤がよく知られる。申請者はがんのマクロファージ浸潤について、本シグナル経路の活性化が寄与することを同時に報告した。これらのことから、糖尿病に代表される他の mTORC1 活性化型の慢性炎症においても FOXK1 経路が同様に重要な働きをすることが期待される。

## 2. 研究の目的

生活習慣病とがんには類似点が指摘される。一点目はどちらも慢性炎症状態であること、二点目はどちらも mTORC1 の異常活性化が観察されるという点である。これらの類似点から、申請者は本研究において「mTORC1 下流の FOXK1 経路は生活習慣病とがんに共通する慢性炎症シグナル機構である」という仮説を立て、その検証を行う。申請者はこれまでに、腫瘍へのマクロファージ浸潤に FOXK1 経路が重要であることを報告した。発がんのステップで mTORC1 は異常活性化が引き起こされる一方で、糖尿病の肥満脂肪においては過剰栄養摂取によって mTORC1 活性化が誘導される。そこで脂肪細胞組織に特異的な FOXK1 欠損マウスを作製し、過剰栄養に起因する糖尿病において各種症状が改善するかを検討することを、本研究計画の目的とする。

## 3. 研究の方法

FOXK1 (flox) マウスと各種 Cre マウスを掛け合わせ、脂肪細胞特異的、肝細胞特異的に FOXK1 を欠損したマウスを作製する。また高脂肪食投与によって誘導した慢性炎症・血糖値上昇・インスリン抵抗性を解析することにより、糖尿病への FOXK1 の寄与を明らかにする。また NASH 誘導食を投与し、脂肪肝、肝炎、肝線維化、肝がんについて解析することにより、FOXK1 の脂肪性肝疾患への寄与を明らかにする。寄与が明らかになった場合には、トランスクリプトーム解析やクロマチン免疫沈降法による解析を行い、該当する細胞種について FOXK1 が誘導する遺伝子発現を同定する。これらの解析から FOXK1 の代謝臓器における機能と、疾患の創薬標的としての可能性を検証する。

## 4. 研究成果

### (1) 糖尿病における脂肪細胞 FOXK1 の関与の検討

脂肪組織とマクロファージについて FOXK1 を欠損したマウス (FOXK1 flox マウスと aP2-Cre マウスとを掛け合わせたマウス) を作製した。通常食投与時には体重、耐糖能ともに野生型マウスと比べて違いがみられず、長期的な高脂肪食投与時においても体重に違いは見られないものの、耐糖能の変化について有意な改善が見られた。この結果を受けて脂肪組織のみで FOXK1 を欠損したマウス (Adiponectin-Cre マウスとの掛け合わせ) を作製した。このマウスは aP2-Cre マウスと同様に通常食投与条件下では体重や耐糖能に特に違いは見られなかった。しかしながら長期的な高脂肪食投与を試みたところ、aP2-Cre マウスとは異なり耐糖能の改善には至らなかった。

### (2) 脂肪性肝疾患における脂肪細胞 FOXK1 の関与の検討

肝細胞について特異的に FOXK1 を欠損したマウス (FOXK1 flox マウスと Albumin-Cre マウスとを掛け合わせたマウス) を作製した。通常食投与時には体重、耐糖能ともに野生型マウスと比べて違いがみられず、NASH 誘導食の投与時には、脂肪肝だけでなく、関連する炎症、線維症、および腫瘍形成が改善された。ゲノムワイドなトランスクリプトームおよびクロマチン免疫沈降分析により、肝臓における FOXK1 の直接の標的として Ppara を含むいくつかの脂質代謝関連遺伝子が同定された。これらの結果は FOXK1 が肝臓の栄養素依存性脂質異化作用を抑制することを示しており、その阻害が NAFLD-NASH および HCC の有望な治療戦略であることを示唆するも

のである。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Nakatsumi Hirokazu, Oka Takeru, Higa Tsunaki, Shirane Michiko, Nakayama Keiichi I.	4. 巻 23
2. 論文標題 Nuclear-cytoplasmic shuttling protein PP2AB56 contributes to mTORC1-dependent dephosphorylation of FOXK1	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 599 ~ 605
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12597	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shimizu Hideyuki, Takeishi Shoichiro, Nakatsumi Hirokazu, Nakayama Keiichi I.	4. 巻 4
2. 論文標題 Prevention of cancer dormancy by Fbxw7 ablation eradicates disseminated tumor cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/jci.insight.125138	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Shirane Michiko, Wada Mariko, Morita Keiko, Hayashi Nahoki, Kunimatsu Reina, Matsumoto Yuki, Matsuzaki Fumiko, Nakatsumi Hirokazu, Ohta Keisuke, Tamura Yasushi, Nakayama Keiichi I.	4. 巻 11
2. 論文標題 Protrudin and PDZD8 contribute to neuronal integrity by promoting lipid extraction required for endosome maturation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 4576
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-18413-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yamauchi Yuhei, Nita Akihiro, Nishiyama Masaaki, Muto Yoshiharu, Shimizu Hideyuki, Nakatsumi Hirokazu, Nakayama Keiichi I.	4. 巻 25
2. 論文標題 Skp2 contributes to cell cycle progression in trophoblast stem cells and to placental development	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 427 ~ 438
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12769	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中津海 洋一・松本 雅記・白根 道子・中山 敬一
2. 発表標題 定量的リン酸化プロテオミクスによるmTORC1下流の新規がん促進シグナルの解析
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2019年大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中津海 洋一・白根 道子・中山 敬一
2. 発表標題 PP2AB56 は核内転写因子FOXK1 のmTORC1 依存的脱リン酸化に寄与する
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中津海 洋一
2. 発表標題 定量的大規模リン酸化プロテオミクスによるmTORC1下流のシグナル解析
3. 学会等名 基礎生物学研究所 部門公開セミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中津海 洋一
2. 発表標題 mTORC1依存的な転写因子の脱リン酸化メカニズムとその生物学的意義
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中津海 洋一
2. 発表標題 Noncanonical Pathway for Regulation of CCL2 Expression by an mTORC1-FOXK1 Axis Promotes Recruitment of Tumor-Associated Macrophages.
3. 学会等名 第47回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中津海 洋一
2. 発表標題 定量的リン酸化プロテオミクスによるmTOR下流の大規模シグナル解析
3. 学会等名 第1回シロリムス新作用研究会（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------