

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 5 月 17 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26291017

研究課題名(和文) 新開発活性解析法を用いた新規ジアシルグリセロールキナーゼ関連経路の同定と機能制御

研究課題名(英文) Identification of novel pathways consist of DGK isozymes using new analyzing methods and regulation of their functions

研究代表者

坂根 郁夫 (Sakane, Fumio)

千葉大学・理学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：10183815

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円

研究成果の概要(和文)：ジアシルグリセロール(DG)キナーゼ(DGK)には10種のアイソザイムが存在する。それらの生理機能はこれまで殆ど不明だったが、最近申請者らは、DGKアイソザイムそれぞれが、多様なシグナル伝達系を決定的に制御し、難治病態形成において重要な役割を担う可能性を示した。そこで、(1)DGK各アイソザイムが形成する「新規DG代謝経路」の探索・実体同定と(2)その生理機能と制御機構の解明することを計画した。その結果、DGK<sub>α</sub>と<sub>β</sub>が形成する「新規DG代謝経路」とそれらの生理病理機能(例えば、がん、免疫、双極性障害、強迫性障害、パーキンソン病等)に関して興味ある知見が得られた。

研究成果の概要(英文)：Diacylglycerol kinase (DGK) contains ten isozymes. We have recently found that DGK isozymes play pivotal roles in a wide variety of signal transduction pathways and are involved in pathogenesis of refractory diseases. Thus, we planned to find (1) novel pathways consist of DGK isozymes and to reveal their patho-physiological functions. We obtained interesting results concerning new metabolic pathways that are composed of DGK<sub>α</sub> and <sub>β</sub>, and their patho-physiological functions (e.g., cancer, immunity, bipolar disorder, obsessive-compulsive disorder, and Parkinson's disease).

研究分野：生化学

キーワード：細胞情報伝達機構 脂質 ジアシルグリセロール リン酸化 活性制御

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ジアシルグリセロール (DG) キナーゼ (DGK) は DG をリン酸化してホスファチジン酸 (PA) を産生する酵素で、10 種のアイソザイムから成る。DGK 関連の論文はここ 10 年で倍以上に増え注目度が格段に上昇している。申請者らは 25 年に渡り DGK 研究に携わり、最近では例えば、DGK  $\alpha$  が MEK/ERK 系を活性化して肝細胞癌の増殖を亢進すること、DGK  $\delta$  の発現低下がインスリン受容体シグナルを負に制御し 2 型糖尿病を増悪化すること、DGK  $\eta$  が C-Raf を活性化し癌細胞の増殖を亢進すること等を明らかにしている。この様に、他研究室の成果を含め個別のアイソザイムの多彩で重要な生理機能や病態との関連は明らかになりつつある。しかし、DGK が関わる生命現象をより正確に且つ広範に知るためには、未だ研究者が全く見落とししている要点があり、これらは早急に知り、開発しなければならない重要課題である。そして最近、それぞれに独自の新手法を開発し、解決への基盤が得られた。

DGK がホスファチジルイノシトール (PI) 代謝回転を構成する酵素であることから、従来漠然と全てのアイソザイムの基質 DG は同経路の PI 由来 (アラキドン酸 (20:4 (炭素数:二重結合数)) 含有) であるとドグマの様に信じられてきた。しかし、最近独自開発の液体クロマトグラフィー (LC)/質量分析 (MS) を用いた実験を行ったところ、意外にも、DGK  $\alpha$  はドコサヘキサエン酸 (22:6) を含む DG 分子種に、DGK  $\delta$  はパルミチン酸 (16:0) を含有する DG 分子種に選択的であるという大変興味ある知見が得られた。この結果は従来のドグマに反し、これらのアイソザイムが利用する DG は「PI 代謝回転とは独立し、異なる脂肪酸を利用する (未知の) 経路群」により供給されることを強く示唆している。これは研究者がこれまで長い間見落とししていた点に光を当てるものである。しかし、その経路の実体や意義は未だ不明である。

### 2. 研究の目的

(1) 未だ存在や実体が明らかではない DGK 各アイソザイムが形成する「新規 DG 代謝経路」の探索・実体同定。

(2) 「新規 DG 代謝経路」の生理機能と制御機構の解明。

### 3. 研究の方法

申請者が独自に開発・作成した LC/MS 法やアイソザイム特異的阻害剤、モデル動物等を駆使して分子レベル、細胞レベル、個体レベルで明らかにした。

### 4. 研究成果

「研究の目的」, 「研究実施計画」に沿って多くの興味ある知見が得られた。

### (1) 「新規 DG 代謝経路」の探索・実体同定

①まず、DGK  $\delta$  に関して検討した。DGK  $\delta$  は主に飽和脂肪酸のみを含有する DG 分子種 (30:0, 32:0, 34:0 (2本の脂肪酸の和)) に選択性を示した [論文⑥]。②DGK  $\alpha$ ,  $\delta$  と  $\eta$  が 1, 2-DG に加え、2-モノアシルグリセロール (MG) をリン酸化することを明らかにし、DGK  $\theta$  は DGK  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\eta$  とは異なり、1-MG をリン酸化するユニークなアイソザイムであることが明らかになった [論文⑧]。③DGK  $\zeta$  は神経細胞分化時に 16:0/16:0-DG を選択的にリン酸化することを明らかにした [論文③]。④異なる DG 分子種が異なるプロテインキナーゼ C アイソザイムを異なる強さで活性化することを示した [論文⑥]。

### (2) 「新規 DG 代謝経路」の生理機能と制御機構の解明

①DGK  $\alpha$  の活性化機構として、カルシウム結合に伴い DGK  $\alpha$  の EF ハンドモチーフの構造が変化し、それによって C1 ドメインとの分子内相互作用が弱まることを報告した [論文⑩]。②DGK  $\alpha$  特異的阻害剤のがん細胞の死滅や T 細胞の活性化に対する顕著な効果を明らかにした [論文⑫]。③2 型糖尿病と関連する DGK  $\delta$  の発現量をミリスチン酸 (14:0) が増加させる (倍増) ことを見出した [論文⑬]。更に、ミリスチン酸 (14:0) が DGK  $\delta$  (2 型糖尿病と関連する) の発現量を増加させることによって筋細胞の糖取り込み能を亢進することを見出した [論文⑨]。④病態との関連を探る第一歩として DGK  $\delta$  と  $\eta$  の脳での発現を明らかにした [論文⑮]。DGK  $\delta$  は海馬と歯状回にも強い発現がみられた。DGK  $\eta$  は歯状回での発現が CA 領域に比べ非常に強く、CA3 領域ではほとんど検出されなかった。⑤DGK  $\eta$  のプレクストリン相同ドメインは特異的且つ強力なホスファチジルイノシトール 4, 5 ニリン酸結合領域であることを明らかにした [論文⑪]。⑥DGK  $\eta$  が DG に親和性の高いユニークなアイソザイムであることを明らかにした [論文⑬]。⑦脳特異的 DGK  $\delta$  ノックアウト (KO) マウスを作製し、強迫性障害様の表現型を示すことを明らかにした [論文⑦]。⑧DGK  $\eta$ -KO マウスは GSK3  $\beta$  のリン酸化の低下を通じ双極性障害の躁状態に類似する表現型を示すことを明らかにした [論文⑩]。⑨ DGK  $\eta$  には新たな精巣特異的選択的スプライス産物が有ることを報告した [論文④]。⑩ 18:1/18:1-PA が  $\alpha$  シヌクレインの凝集を強く促進することが明らかになった [論文②]。

### 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 18 件)

① Murakami, C., Mizuno, S., Kado, S. and Sakane, F. Development of a liquid chromatography-mass spectrometry based enzyme activity assay for

- phosphatidylcholine-specific phospholipase C. *Anal. Biochem.*, **526**, 43–49 (2017) 査読有 (DOI: 10.1016/j.ab.2017.03.010)
- ② Mizuno, S., Sasai, H., Kume, A., Takahashi, D., Satoh, M., Kado, S. and Sakane, F. Dioleoyl-phosphatidic acid selectively binds to  $\alpha$ -synuclein and strongly induces its aggregation. *FEBS Lett.*, **591** (5), 784–791 (2017) 査読有 (DOI: 10.1002/1873-3468.12592)
- ③ Mizuno, S., Kado, S., Goto, K., Takahashi, D. and Sakane, F. Diacylglycerol kinase  $\zeta$  generates dipalmitoyl-phosphatidic acid species during neuroblastoma cell differentiation. *Biochem. Biophys. Rep.*, **8**, 352–359 (2016) 査読有 (DOI: 10.1016/j.bbrep.2016.10.004)
- ④ Murakami, E., Shionoya, T., Komenoi, S., Suzuki, Y. and Sakane, F. Cloning and characterization of novel testis-specific diacylglycerol kinase  $\eta$  splice variant 3 and 4. *PLOS ONE* **11** (9), Article e0162997, 1–14 (2016) 査読有 (DOI: 10.1371/journal.pone.0162997)
- ⑤ Sakane, F., Mizuno, S. and Komenoi, S. Diacylglycerol kinases as emerging potential drug targets for a variety of diseases: An update. Research Topic in 2016 "Diacylglycerol Kinase Signalling", *Front. Cell Dev. Biol.* **4**, Article 82, 1–8 (2016) 査読有 (DOI: 10.3389/fcell.2016.00082)
- ⑥ Kamiya, Y., Mizuno, S., Komenoi, S., Sakai, H., and Sakane, F. Activation of conventional and novel protein kinase C isozymes by different diacylglycerol molecular species. *Biochem. Biophys. Rep.* **7**, 361–366 (2016) 査読有 (DOI: 10.1016/j.bbrep.2016.07.017)
- ⑦ Usuki, T., Takato, T., Lu Q., Sakai, H., Bando, K., Kiyonari, H. and Sakane, F. Behavioral and pharmacological phenotypes of brain-specific diacylglycerol kinase  $\delta$ -knockout mice. *Brain Res.* **1648** (Part A), 193–201 (2016) 査読有 (DOI: 10.1016/j.brainres.2016.07.017)
- ⑧ Sato, Y., Murakami, C., Yamaki, A., Mizuno, S., Sakai, H. and Sakane, F. Distinct 1- and 2-monoacylglycerol kinase activities of diacylglycerol kinase isozymes. *Biochim. Biophys. Acta - Proteins Proteomics* **1864** (9), 1170–1176 (2016) 査読有 (DOI: 10.1016/j.bbapap.2016.06.012)
- ⑨ Wada, Y., Sakiyama, S., Sakai, H. and Sakane, F. Myristic acid enhances diacylglycerol kinase  $\delta$ -dependent glucose uptake in myotubes. *Lipids* **51** (8), 897–903 (2016) 査読有 (DOI: 10.1007/s11745-016-4162-9)
- ⑩ Isozaki, T., Komenoi, S., Lu Q., Usuki, T., Tomokata, S., Matsutomo, D., Sakai, H., Bando, K., Kiyonari, H. and Sakane, F. Deficiency of diacylglycerol kinase  $\eta$  induces lithium-sensitive mania-like behaviors. *J. Neurochem.* **138** (3), 448–456 (2016) 査読有 (DOI: 10.1111/jnc.13661)
- ⑪ Kume, A., Kawase, K., Komenoi, S., Usuki, T., Takeshita, E., Sakai, H. and Sakane, F. The pleckstrin homology domain of diacylglycerol kinase  $\eta$  strongly and selectively binds to phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate. *J. Biol. Chem.* **291** (15), 8150–8161 (2016) 査読有 (DOI:10.1074/jbc.M115.648717)
- ⑫ Liu, K., Kunii, N., Sakuma, M., Yamaki, A., Mizuno, S., Sato, M., Sakai, H., Kado, S., Kumagai, K., Kojima, H., Okabe, T., Nagano, T., Shirai, Y. and Sakane, F. A novel diacylglycerol kinase  $\alpha$ -selective inhibitor, CU-3, induces cancer cell apoptosis and enhances immune response. *J. Lipid Res.* **57** (3), 368–379 (2016) 査読有 (DOI:10.1194/jlr.M062794)
- ⑬ Komenoi, S., Takemura, F., Sakai, H. and Sakane, F. Diacylglycerol kinases  $\eta 1$  is a high affinity isozyme for diacylglycerol. *FEBS Lett.* **589** (11), 1272–1277 (2015) 査読有 (DOI: 10.1016/j.febslet.2015.03.032)
- ⑭ Shionoya, T., Usuki, T., Komenoi, S., Isozaki, T., Sakai, H. and Sakane, F. Distinct expression and localization of type II diacylglycerol kinase isozymes  $\delta$ ,  $\eta$  and  $\kappa$  in mouse reproductive organs. *BMC Dev. Biol.* **15** (1), Article 6, 1–10 (2015) 査読有 (DOI: 10.1186/s12861-015-0055-z)
- ⑮ Usuki, T., Sakai, H., Shionoya, T., Sato, N. and Sakane, F. Expression and localization of type II diacylglycerol kinase isozymes  $\delta$  and  $\eta$  in developing mouse brain. *J. Histochem. Cytochem.*, **63** (1), 57–68 (2015) 査読有 (DOI: 10.1369/0022155414559130)
- ⑯ Sakai, H., Kado, S., Taketomi, A. and Sakane, F. Diacylglycerol kinase  $\delta$  phosphorylates phosphatidylcholine-specific phospholipase C-dependent, palmitic acid-containing diacylglycerol species in response to high glucose levels. *J. Biol. Chem.* **289** (38), 26607–26617 (2014) 査読有 (DOI: 10.1074/jbc.M114.590950)
- ⑰ Sakiyama, S., Usuki, T., Sakai, H. and Sakane, F. Regulation of diacylglycerol kinase  $\delta$  expression in C2C12 skeletal muscle cells by free fatty acids. *Lipids* **49** (7), 633–640 (2014) 査読有 (DOI: 10.1007/s11745-014-3912-9)
- ⑱ Yamamoto, T., Sakai, H. and Sakane, F. EF-hand motifs of diacylglycerol kinase  $\alpha$

interact intra-molecularly with its C1 domains. *FEBS Open Bio* **4**, 387–392 (2014) 査読有 (DOI: 10.1016/j.fob.2014.04.003)

[学会発表] (計 47 件)

- ① Sakane, F., Mizuno, S. and Sakai, H., Diacylglycerol kinase utilizes diacylglycerol species from phosphatidylinositol turnover-independent pathways. In: the 58th Advances in Biological Regulation Symposium in Bologna “Biological Regulation and Enzyme Activity in Normal and Neoplastic Tissues”: Bologna, Italy: October 2–3, 2017 (Invited speaker)
- ② 陸強, 臼木貴子, 高戸珠恵, 坂根郁夫: 脳におけるジアシルグリセロールキナーゼ  $\delta$  の欠損は強迫性障害様の行動を引き起こす. 平成 29 年度 日本生化学会関東支部例会, 2017 年 6 月 17 日, 東京
- ③ 堺弘道, 松本健一, 坂根郁夫: ジアシルグリセロールキナーゼ  $\delta$  は C2C12 筋芽細胞の筋分化誘導のために cyclin D1 の発現を制御する. 第 59 回日本脂質生化学会, 2017 年 6 月 15–16 日, 京都
- ④ 岩田海, 高戸珠恵, 和田祐子, 坂根郁夫: ミリスチン酸の持続的投与は II 型糖尿病モデルマウスの血糖値上昇を防ぐ. 第 59 回日本脂質生化学会, 2017 年 6 月 15–16 日, 京都
- ⑤ 水野悟, 坂根郁夫: 18:1/18:1-ホスファチジン酸は  $\alpha$ -シヌクレインと強く結合し凝集を促進する. 第 59 回日本脂質生化学会, 2017 年 6 月 15–16 日, 京都
- ⑥ Murakami, C. and Sakane, F., New evaluation method of diacylglycerol-generating activity of phosphatidylcholine-specific phospholipase C using mass spectrometry. In: The 7th International Symposium on Diacylglycerol Kinase: Kobe: March 13, 2017
- ⑦ Takahashi, D., Satoh, E. and Sakane, F., Expression and purification of diacylglycerol kinase  $\alpha$  catalytic domain for crystallographic studies. In: The 7th International Symposium on Diacylglycerol Kinase: Kobe: March 13, 2017
- ⑧ Sakane, F., Roles of diacylglycerol kinase isozymes and phosphatidic acid species in neurological functions and disorders. In: The 7th International Symposium on Diacylglycerol Kinase: Kobe: March 13, 2017 (Invited speaker)
- ⑨ 坂根郁夫, 水野悟. 神経細胞で産生されるホスファチジン酸分子種とその結合蛋白質  $\alpha$  シヌクレイン. 第 5 回 大学連携研究設備ネットワーク 研究成果報告会 ~質量分析を中心とした最新の研究展開~: 2017 年 3 月 8 日, 千葉
- ⑩ 八巻篤実, 劉可, 国井奈央子, 坂根郁夫: メラノーマ細胞に対するジアシルグリセロールキナーゼ  $\alpha$  選択的活性制御化合物の細胞死誘導効果, 第 89 回日本生化学会大会, 2016 年 9 月 25–27 日, 仙台
- ⑪ 川瀬功暉, 坂根郁夫: ジアシルグリセロールキナーゼ  $\eta$  のプレクストリン相同ドメインの精製とその性質, 第 89 回日本生化学会大会, 2016 年 9 月 25–27 日, 仙台
- ⑫ 陸強, 磯崎丈志, 米野井優, 坂根郁夫: ジアシルグリセロールキナーゼ  $\eta$  欠損によるリチウム感受性躁狂行動の誘導, 第 89 回日本生化学会大会, 2016 年 9 月 25–27 日, 仙台
- ⑬ 村上千明, 水野悟, 坂根郁夫: 質量分析法を用いた新規ホスファチジルコリン特異的ホスホリパーゼ C 活性測定法の開発, 第 89 回日本生化学会大会, 2016 年 9 月 25–27 日, 仙台
- ⑭ 米野井優, 坂根郁夫: ジアシルグリセロールキナーゼ  $\eta$  ノックアウトマウスのそよう行動惹起の分子メカニズム, 第 89 回日本生化学会大会, 2016 年 9 月 25–27 日, 仙台
- ⑮ 水野悟, 坂根郁夫: 神経分化誘導時に産生されるジアシルグリセロール及びホスファチジン酸分子種の解析, 第 89 回日本生化学会大会, 2016 年 9 月 25–27 日, 仙台
- ⑯ 陸強, 磯崎丈志, 米野井優, 坂根郁夫: ジアシルグリセロールキナーゼ  $\eta$  欠損によるリチウム感受性躁狂行動の誘導, 第 58 回日本脂質生化学会, 2016 年 6 月 9–10 日, 秋田
- ⑰ 水野悟, 坂根郁夫: 神経分化誘導時に産生されるジアシルグリセロール及びホスファチジン酸分子種の解析, 第 58 回日本脂質生化学会, 2016 年 6 月 9–10 日, 秋田
- ⑱ 堺弘道, 松本健一, 坂根郁夫: C2C12 筋芽細胞の筋分化におけるジアシルグリセロールキナーゼ  $\delta$  の機能, 第 58 回日本脂質生化学会, 2016 年 6 月 9–10 日, 秋田
- ⑲ Mizuno, S. and Sakane, F., Diacylglycerol kinase  $\zeta$  produces 16:0-containing phosphatidic acid molecular species during neuroblastoma cell differentiation. In: 2016 Annual Meeting of the American Society for Biochemistry and Molecular Biology at Experimental Biology 2016: San Diego, California, USA: April 2–6, 2016
- ⑳ Yamaki, A., Liu, Ke., Kunii, N., Mizuno, S. and Sakane, F., A novel diacylglycerol kinase  $\alpha$ -selective inhibitor, CU-3, induces cancer cell apoptosis and enhances immune response. Joint Workshop on Chirality in

- Chiba University and on Soft-Molecule Activation. Chiba: March 17, 2016
- ②① 村上絵梨, 塩谷貴生, 坂根郁夫: 精巢に特異的に発現する新規 DGK $\eta$  スプライシングバリエーション DGK $\eta$ 3 遺伝子のクローニング. In: *Biochemistry and Molecular Biology 2015* (第 88 回日本生化学会大会・第 38 回日本分子生物学会年会): 神戸: December 1-4, 2015
- ②② 水野悟, 坂根郁夫: 神経分化時に産生されるホスファチジン酸分子種とその産生酵素の同定. In: *Biochemistry and Molecular Biology 2015* (第 88 回日本生化学会大会・第 38 回日本分子生物学会年会): 神戸: December 1-4, 2015
- ②③ 和田祐子, 堺弘道, 崎山静花, 坂根郁夫: ミリスチン酸は筋管細胞のジアシルグリセロールキナーゼ  $\delta$  の発現とグルコース取り込み能を亢進する. In: *Biochemistry and Molecular Biology 2015* (第 88 回日本生化学会大会・第 38 回日本分子生物学会年会): 神戸: December 1-4, 2015
- ②④ 米野井優, 堺弘道, 坂根郁夫: ジアシルグリセロールキナーゼ  $\eta$  はジアシルグリセロール高親和性のアイソザイムである. In: *Biochemistry and Molecular Biology 2015* (第 88 回日本生化学会大会・第 38 回日本分子生物学会年会): 神戸: December 1-4, 2015
- ②⑤ 神谷侑那, 水野悟, 堺弘道, 坂根郁夫: ジアシルグリセロールキナーゼによって代謝されるジアシルグリセロール分子種のプロテインキナーゼ C 活性化能. In: *Biochemistry and Molecular Biology 2015* (第 88 回日本生化学会大会・第 38 回日本分子生物学会年会): 神戸: December 1-4, 2015
- ②⑥ 佐藤優里子, 坂根郁夫: 脂質代謝酵素ジアシルグリセロールキナーゼの多様なモノアシルグリセロールキナーゼ活性. In: *Biochemistry and Molecular Biology 2015* (第 88 回日本生化学会大会・第 38 回日本分子生物学会年会): 神戸: December 1-4, 2015
- ②⑦ 白木貴子, 高戸珠恵, 堺弘道, 坂根郁夫: 発達中マウスの脳における diacylglycerol kinase  $\delta$  の発現とその脳特異的欠損マウスの表現型解析. In: *Biochemistry and Molecular Biology 2015* (第 88 回日本生化学会大会・第 38 回日本分子生物学会年会): 神戸: December 1-4, 2015
- ②⑧ 坂根郁夫: インスリン抵抗性とジアシルグリセロールキナーゼ  $\delta$ . In: *Biochemistry and Molecular Biology 2015* (第 88 回日本生化学会大会・第 38 回日本分子生物学会年会) ワークショップ
- 「DG シグナリングと糖尿病関連疾患」: 神戸: December 1-4, 2015
- ②⑨ Komenoi, S., Sakai, H. and Sakane, F., Diacylglycerol kinases  $\eta$ 1 is a high affinity isozyme for diacylglycerol. In: 14th International Conference on Bioactive Lipids in Cancer, Inflammation and Related Diseases. Budapest, Hungary: July 12-15, 2015
- ③⑩ Usuki, T. and Sakane, F., Expression and localization of diacylglycerol kinase  $\delta$  in the developing mouse brain and phenotype of its brain-specific knockout mice. In: 14th International Conference on Bioactive Lipids in Cancer, Inflammation and Related Diseases. Budapest, Hungary: July 12-15, 2015
- ③⑪ 劉可, 国井奈央子, 佐藤麻由, 白井康仁, 坂根郁夫: ジアシルグリセロールキナーゼ  $\alpha$  の選択的活性阻害化合物の同定, 第 57 回日本脂質生化学会, 2015 年 5 月 28-29 日, 東京
- ③⑫ 水野 悟, 坂根郁夫: 神経分化時に産生されるホスファチジン酸分子種とその産生酵素の同定, 第 57 回日本脂質生化学会, 2015 年 5 月 28-29 日, 東京
- ③⑬ 米野井優, 堺弘道, 坂根郁夫: ジアシルグリセロールキナーゼ  $\eta$  はジアシルグリセロール高親和性のアイソザイムである, 第 57 回日本脂質生化学会, 2015 年 5 月 28-29 日, 東京
- ③⑭ 林大輝, 劉可, 上田修司, 山之上稔, 坂根郁夫, 白井康仁: 糖尿病性腎症改善薬開発のための新規ジアシルグリセロールキナーゼ  $\alpha$  活性化剤のスクリーニング, 第 88 回日本薬理学会大会, 2015 年 3 月 18 日-20 日, 名古屋
- ③⑮ Sakane, F., Diacylglycerol kinase  $\alpha$  as an ideal therapeutic target for refractory cancer. In: International Symposium "Diacylglycerol kinase as possible therapeutic targets for various diseases" in 88th annual Meeting of the Japanese Pharmacological Society: Nagoya: March 18-20, 2015
- ③⑯ Komenoi, S. and Sakane, F., Diacylglycerol kinases  $\eta$ 1 is a high affinity isozyme for diacylglycerol. In: The 6th International Conference on PLA2 and Lipid Mediators (PLM2015): Tokyo: February 10-12, 2015
- ③⑰ Usuki, T. and Sakane, F., Expression and Localization of Type II Diacylglycerol Kinase Isozymes  $\delta$  and  $\eta$  in the Developing Mouse Brain. In: The 6th International Conference on PLA2 and Lipid Mediators (PLM2015): Tokyo: February 10-12, 2015
- ③⑱ Sakai, H. and Sakane, F., Diacylglycerol kinase  $\delta$  phosphorylates phosphatidylcholine-specific phospholipase C-dependent, palmitic acid-containing

diacylglycerol species in response to high glucose levels. In: The 6th International Conference on PLA2 and Lipid Mediators (PLM2015): Tokyo: February 10–12, 2015

- ③⑨ 佐藤優理子, 堺弘道, 水野悟, 坂根郁夫: ジアシルグリセロールキナーゼ  $\delta$  のモノアシルグリセロールキナーゼ活性, 第 87 回日本生化学会大会, 2014 年 10 月 15 日~18 日, 京都
- ④⑩ 水野悟, 堺弘道, 坂根郁夫: 神経分化誘導時に産生されるホスファチジン酸およびリゾホスファチジン酸分子種の解析, 第 87 回日本生化学会大会, 2014 年 10 月 15 日~18 日, 京都
- ④⑪ 米野井優, 堺弘道, 坂根郁夫: 脂質代謝酵素ジアシルグリセロールキナーゼ  $\delta$ ,  $\eta$  の酵素学的性質解析, 第 87 回日本生化学会大会, 2014 年 10 月 15 日~18 日, 京都
- ④⑫ 竹村文花, 米野井優, 佐藤優里子, 堺弘道, 坂根郁夫: Cold shock-trigger factor 系を用いたジアシルグリセロールキナーゼ  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\eta$  の発現・精製と活性測定, 第 87 回日本生化学会大会, 2014 年 10 月 15 日~18 日, 京都
- ④⑬ 堺弘道, 坂根郁夫: ジアシルグリセロールキナーゼ  $\delta$  はホスファチジルコリンに由来するパルミチン酸含有ジアシルグリセロール分子種を選択的にリン酸化する, 第 87 回日本生化学会大会, 2014 年 10 月 15 日~18 日, 京都
- ④⑭ 臼木貴子, 堺弘道, 塩谷貴生, 坂根郁夫: 発達中マウスの脳における II 型 diacylglycerol kinase アイソザイム  $\delta$  及び  $\eta$  の発現と局在, 第 87 回日本生化学会大会, 2014 年 10 月 15 日~18 日, 京都
- ④⑮ 久米愛子, 竹下依那, 堺弘道, 坂根郁夫: II 型ジアシルグリセロールキナーゼのプレクストリン相同ドメインとリン脂質の相互作用, 第 87 回日本生化学会大会, 2014 年 10 月 15 日~18 日, 京都
- ④⑯ 塩谷貴生, 臼木貴子, 堺弘道, 坂根郁夫: 雌雄生殖器における II 型ジアシルグリセロールキナーゼアイソザイム,  $\delta$ ,  $\eta$ ,  $\kappa$  の発現部位の同定と組織内発現分布の解析, 第 87 回日本生化学会大会, 2014 年 10 月 15 日~18 日, 京都
- ④⑰ 堺弘道, 坂根郁夫: グルコース刺激時におけるジアシルグリセロールキナーゼ  $\delta$  のパルミチン酸含有ジアシルグリセロール分子種を選択的代謝, 第 56 回日本脂質生化学会, 2014 年 6 月 6~7 日, 東大阪

〔図書〕 (計 1 件)

- ① 坂根郁夫, 第 3 節 ジアシルグリセロールキナーゼ, 尾池雄一, 佐々木雄彦編, Series モデル動物利用マニュアル 疾患モデルの作成と利用—脂質代謝異常と関連疾患 第 6 章 細胞内脂質シグ

ナル関連因子, pp293–302, エル・アイ・シー, 東京 (2015)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 3 件)

名称: 糖尿病予防・治療用医薬製生物, 血糖値改善用食品組成物, 及び, 糖尿病の予防・治療方法  
発明者: 坂根郁夫  
権利者: 国立大学法人千葉大学  
種類: 特許権  
番号: 特願 2017-090872  
出願年月日: 平成 29 年 4 月 28 日  
国内外の別: 国内

名称: DGK $\delta$  ノックアウトマウス及びこれを用いた方法  
発明者: 坂根郁夫  
権利者: 国立大学法人千葉大学  
種類: 特許権  
番号: 特願 2017-004729  
出願年月日: 平成 29 年 1 月 13 日  
国内外の別: 国内

名称: DGK $\eta$  ノックアウトマウス及びこれを用いた方法  
発明者: 坂根郁夫  
権利者: 国立大学法人千葉大学  
種類: 特許権  
番号: 特願 2016-220080  
出願年月日: 平成 28 年 11 月 10 日  
国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://sakane32.wixsite.com/biofunctionchemistry>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

坂根 郁夫 (SAKANE FUMIO)  
千葉大学・大学院理学研究科・教授  
研究者番号: 10183815

### (3) 連携研究者

堺 弘道 (SAKAI HIROMICHI)  
島根大学・総合科学研究支援センター・助教  
研究者番号: 00375255