

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 7 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461367

研究課題名(和文) PPAR γ 1特異的プロモータのみの欠失による小人症マウス発症因子探索研究課題名(英文) Discovery of Dwarfism Mouse Model by Deletion of PPAR γ 1 Specific Promoter.

研究代表者

井上 郁夫 (INOUE, Ikuo)

埼玉医科大学・医学部・教授

研究者番号：60232526

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、PPAR γ 1と異なるプロモータであるエクソンCから転写される、新規スプライシングバリエントを発見し、コンストラクトを構築してきた(Fig.1A)(Takahashi S, Inoue I, et al. J Atheroscler Thromb 17:73-83, 2010)。この新規SVが、PPAR γ 2と同様脂肪細胞分化誘導に関わり(Y Takenaka, I Inoue: PLoS One 8:e65583,2013)、特異的ノックアウト(KO)ホモマウスが胎生致死で(Fig.1C)、一方、エクソンA1特異的KOホモマウスは、受精18.5日まで正常に成長していた(Fig.2)。

研究成果の概要(英文)：We discovered a new splicing valiant (SV) transcribed from exon C of PPAR γ 1, that is previously reported promoter different from exon B of PPAR γ 1 (Fig.1A)(Takahashi S, Inoue I, et al. J Atheroscler Thromb 17:73-83, 2010). It proved that a new splicing valiant (SV) is involved in induction of adipocyte differentiation as well as PPAR γ 2(Y Takenaka, I Inoue: PLoS One 8: e 65583, 2013). We established this site specific knockout (KO) homo mice (Fig.1A) and was found to be embryonic lethal (Fig.1C). On the other hand, conventionally known exon A1 specific KO homo mice were growing normally until 18.5th fertilization (Fig.2).
Currently, exon C specific adipocyte-specific conditional gene KO mouse has also been prepared.

研究分野：脂質代謝

キーワード：PPAR γ 1 PPAR γ 2 プロモータ スプライシングバリエント 脂肪細胞分化誘導 ノックアウト(KO)ホモマウス

1. 研究開始当初の背景

ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 PPAR は核内受容体であり、レチノイド X 受容体 (RXR) とヘテロダイマーを形成して、リガンド依存的に標的遺伝子のプロモータに結合し、コリプレッサー、コアクチベーターと協調して標的遺伝子の転写量を調節する。この PPAR は哺乳類においていくつかの選択的スプライシングバリエント (SV) が存在することが知られ、ヒトと同様に、マウス PPAR には、今まで PPAR 1 および PPAR 2、以上2つのアイソフォーム(選択的 SV)が知られている。PPAR 1 の発現は従来既知とされるエクソン A1 から転写され、多くの組織でユビキタ스에発現し、脂肪細胞分化誘導に関わらないと言われている。一方、PPAR 2 はエクソン B から転写され、脂肪組織に特異的に発現しており主に脂肪細胞分化誘導に関わる、とされている。

2. 研究の目的

我々が脂肪細胞分化誘導に関わることを明らかにし、我々が見出した新規な転写開始部位であるエクソン C 部位が発生においてどのような役割を果たしているのかを明らかにするため、我々はエクソン A1 部位特異的ノックアウト (KO) ホモ型マウスと、エクソン C 部位特異的 KO ホモ型マウスの発生段階における機能を解明する。

3. 研究の方法

マウス胚における PPAR 1 の SV の発現部位の同定 PPAR 1 SV の発生段階における発現調節機構の解明 Adipocyte-specific conditional gene KO マウスの作成、以上の方法でおこなう。

4. 研究成果

KO マウスを樹立するため、該当遺伝子を含むコンストラクトをこれまで構築してきた(図 1)。

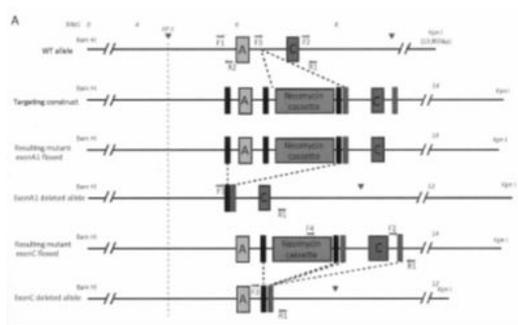


図 1

今回、新規 SV の部位のエクソン C 部位特異的 KO ホモ型マウスを樹立し胎生致死であることが判明した (図 2)。一方、従来既知のエクソン A1 特異的 KO ホモマウスは、胎生致死であったが(図 3)、受精 18.5 日まで正常に成長していた (図 4)。

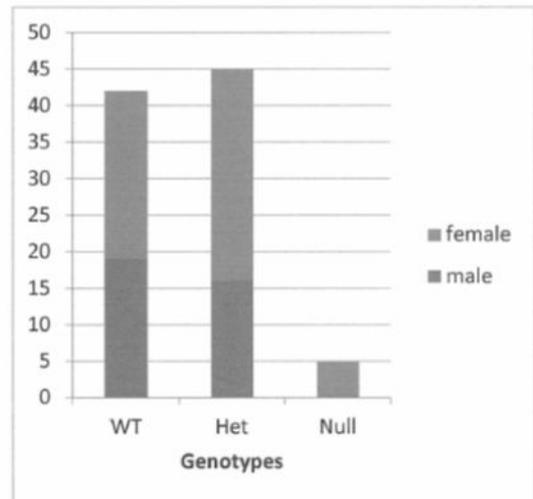


図 2

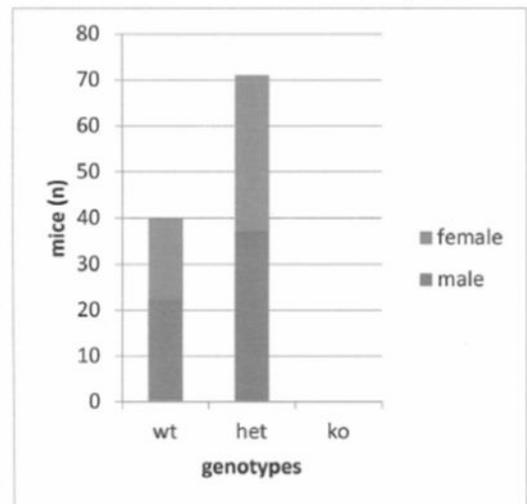


図 3

エクソン A1 特異的 KO ホモマウスの受精 18.5 日の胎児ホモマウスを示す(図 4)。



図 4



図 5

受精 18.5 日の野生型胎児マウスを示す(図 5)。野生型胎児マウスと比較すると、エクソン A1 特異的 KO ホモマウスの受精 18.5 日の胎児の発育は悪く、胎盤形成不全が認められた。

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 9 件)

Sakai G, Shimada A, Saito D, Nakazima R, Hatano M, Noguchi Y, Kurihara S, Katayama S, Inoue I, Noda M. Intrinsic insulin secretion capacity may be preserved by discontinuing anti-PD-1 antibody treatment in “anti-PD-1 antibody-induced” fulminant type 1 diabetes. *Journal of Diabetes Investigation*, 査読有、(in press)

Sakai G, Inoue I, Suzuki T, Sumita T, Inukai K, Katayama S, Awata T, Yamada T, Asano T, Katagiri H, Noda M, Shimada A, Ono H. Effects of the activations of three major hepatic Akt substrates on glucose metabolism in male mice. *Endocrinology* en.2016-1969. 査読有、DOI:<https://doi.org/10.1210/en.2016-1969>, PMID:28498916

Inoue I, Kubota R, Yanagi S, Akita M, Nakano T, Katayama S, Shimada A, Noda M. The new molecular entity evolocumab, one kind of PCSK9 inhibitor, reduce plasma small size LDL-cholesterol levels by using a new standardized method of measuring LDL size. *Open Journal of Molecular and Integrative*

Physiology, 査読有、7:1-23, 2017
Hatano M, Takenaka Y, Inoue I, Homma K, Hasegawa T, Sasano H, Awata T, Katayama S. Feminizing adrenocortical carcinoma with distinct histopathological findings. *Intern Med*, 査読有、55:3301-3307,2016

Matsunaga T, Suzuki A, Kezuka C, Okumura N, Iguchi K, Inoue I, Soda M, Endo S, El-Kabbani O, Hara A, Ikari A. Aldo-keto reductase 1B10 promotes development of cisplatin resistance in gastrointestinal cancer cells through down-regulating peroxisome proliferator-activated

receptor- dependent mechanism. *Chemico-Biological Interactions*, 査読有、256:142-153,2016

Nakano T, Inoue I, Takenaka Y, Ono H, Katayama S, Awata T, Murakoshi T. Ezetimibe promotes brush border membrane-to-lumen cholesterol efflux in the small intestine. *PLoS ONE* 11(3)、査読有、e0152207. doi:10.1371/journal.pone.0152207,2016

Ito D, Iuchi T, Kurihara S, Inoue I, Katayama S, Inukai K. Efficacy and clinical characteristics of liraglutide in Japanese patients with type 2 diabetes. *J Clin Med Res*, 査読有、7: 694-699, 2015

Takenaka Y, Haga N, Inoue I, Nakano T, Ikeda M, Katayama S, Awata T. Identification of two nickel ion-induced genes, NI16 and PcGST1, in *Paramecium caudatum*. *Eukaryotic Cell*, 査読有、13:1181-90, 2014

Miida T, Nishimura K, Okamura T, Hirayama S, Ohmura H, Yoshida H, Miyashita Y, Ai M, Tanaka A, Sumino H, Murakami M, Inoue I, Kayamori Y, Nakamura M, Nobori T, Miyazawa Y, Teramoto T, Yokoyama S. Validation of homogeneous assays for HDL-cholesterol using fresh samples from healthy and diseased subjects. *Atherosclerosis*, 査読有、233:253-9, 2014

[学会発表](計 19 件)

井上郁夫. 脂質異常症患者一人ひとりへのきめ細かい脂質管理のために～3%ポリアクリルアミドゲルディスク電気泳動法によるリポ蛋白の質・量、同時分析の有用性～ランチョンセミナー第 48 回動脈硬化学会. 2016 年 7 月 14-15、京王プラザホテル、新宿、東京

篠田雄一、千葉泰世、久保田亮、後藤誠一、井上郁夫、穠田真澄、山本啓二、

丸山義明. リポタンパク分画電気泳動濃度図の報告書の標準化の必要性. 第48回日本動脈硬化学会(平成28年7月14~15日、東京)

井上郁夫、後藤誠一、篠田雄一、栗原進、栗田卓也. 8か月間、外来フォーミュラ食1日2回法で減量継続している肥満患者の1例. 平成28年7月1-2日"第34回日本肥満症治療学会学術集会(幕張国際研修センター、東京)

伊藤大輔、犬飼浩一、井上和之、金子貴美江、濱口計子、石川洋子、野口雄一、栗原進、一色政志、井上郁夫、片山茂裕、島田朗、野田光彦. ドラッグナイーブな2型糖尿病患者に対するダパグリフロジンの有効性の検討~食事負荷試験によるメトホルミンとの比較検討~. 第59回日本糖尿病学会、平成28年5月19~21日、京都

井熊絵美、伊藤大輔、井上和之、齋藤太吾、波多野雅子、犬飼浩一、柳澤守文、野口雄一、栗原進、一色政志、井上郁夫、片山茂裕、島田朗、野田光彦. 2型糖尿病患者に対するイブラグリフロジンの糖尿病腎症及び血圧に及ぼす効果の検討. 第59回日本糖尿病学会、平成28年5月19~21日、京都

井内卓次郎、安田重光、矢野裕也、井上和之、飯田慎一郎、井上郁夫、島田朗、野田光彦. 当院で入院した妊娠糖尿病患者、4年間のデータ解析と検討. 第59回日本糖尿病学会、平成28年5月19~21日、京都

井上郁夫、後藤誠一、篠田雄一、栗原進、島田朗、野田光彦. アナグリプチンによるスタチン様作用. 第59回日本糖尿病学会、平成28年5月19~21日、京都
酒井豪太、小野啓、住田崇、鈴木徳子、片山茂裕、栗田卓也、山田哲也、片桐秀樹、井上郁夫、島田朗、野田光彦. 3種のAkt気質と迷走神経肝臓枝の糖代謝における役割. 第59回日本糖尿病学会、平成28年5月19~21日、京都

小泉宇宏、井上郁夫、竹中康浩、中野貴成、村越隆之、栗田卓也. PPARgamma1新規スプライシングバリエント(SV)の脂肪分化への寄与とSV特異的欠損マウスの作製. 第30回日本糖尿病・肥満動物学会、平成28年3月、大宮

千田咲智子、中島理津子、酒井豪太、齋藤太吾、波多野雅子、野口雄一、栗原進、井上郁夫. 膵膿瘍を合併した膵性糖尿病の一例. 第53回日本糖尿病学会関東甲信越地方会、平成28年1月23日~24日、パシフィコ横浜

飯田慎一郎、中島理津子、矢野裕也、井上和之、井内卓次郎、安田重光、栗原進、井上郁夫. エベロリムス加療中に血糖上昇した2症例. 第53回日本糖

尿病学会関東甲信越地方会、平成28年1月23日~24日、パシフィコ横浜
高瀬真智香、波多野雅子、齋藤太吾、酒井豪太、中島理津子、野口雄一、栗田卓也、井上郁夫、片山茂裕. 当院で経験した劇症1型糖尿病の2例. 第53回日本糖尿病学会関東甲信越地方会、平成28年1月23日~24日、パシフィコ横浜

井上郁夫. 「超高齢社会を生き抜くための自己健康管理の必要性」~アドヒアランスとは~埼玉医大労働安全衛生委員会主催講演会、2016年1月19日、埼玉医大第3講堂、毛呂山、埼玉

井上郁夫. 「SGLT2阻害剤による糖尿病治療のパラダイムシフト」アフタヌーンセミナー2、第52回日本臨床生理事学会総会、2015年10月31日、大宮ソニックシティ、大宮、埼玉

井上郁夫. 脂質研究から学ぶ小児生活習慣病治療の展望. シンポジウム2. メタボにおける脂質異常症~家族性高コレステロール血症以外の家族性高脂血症の小児期での早期診断の可能性~. 第29回日本小児脂質研究会、2015年10月24日、皆生グランドホテル天水、米子、鳥取

井上郁夫. 超高齢社会を生き抜くための自己管理の必要性~アドヒアランスとは~健康セミナー、2015年10月10日、まるひろ川越店、川越、埼玉

井上郁夫. 糖尿病検査の今と未来を語る特別講演「SGL2阻害剤と検査所見」、アークレー臨床検査セミナー、2015年6月2日、大宮ソニックシティ、大宮、埼玉

井上郁夫. 脂質異常症治療におけるEPA・DHA製剤の役割. AB(Advance Benefit)研究会、2015(平成27)年2月28日、ホテルニューオータニ、東京

井上郁夫. 肥満症食事療法の基本~フォーミュラ食を含めて. 第4回肥満症総合治療セミナー. 2015(平成27)年2月21日、ウイシュトンホテル・ユーカリ、佐倉、千葉

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井上 郁夫 (INOUE, Ikuo)
埼玉医科大学・医学部・教授
研究者番号: 60232526

(2) 研究分担者

中野 貴成 (NAKANO, Takanari)
埼玉医科大学・医学部・講師
研究者番号: 20406474