

令和 2 年 7 月 13 日現在

機関番号：15401

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19431

研究課題名(和文) 温度依存性に分解されるPin1の機序、類似タンパクの同定から新規温熱治療への展開

研究課題名(英文) Elucidation of the role of Pin1 in thermogenesis and temperature-dependent Pin1 degradation

研究代表者

浅野 知一郎 (Asano, Tomoichiro)

広島大学・医系科学研究科(医)・教授

研究者番号：70242063

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、プロリン異性化酵素Pin1が転写共役因子PRDM16に結合し分解を促進することで脂肪細胞において熱産生に関わるUncoupling protein-1 (UCP-1)発現量を抑制する結果を得た。実際、Pin1 KOマウスでは体温低下が軽度で、寒冷刺激によるUCP-1の発現増加量が顕著に高いことも判明した。従って、長時間の寒冷刺激(あるいは体温低下)によって脂肪細胞では、Pin1のタンパク量が増加し、その結果として、エネルギー消費の抑制と脂肪蓄積の維持によって、低温耐性に貢献していることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

体内からの熱産生は、基礎代謝量に影響している。従って、脂肪細胞からの熱産生量の減少が、肥満や脂肪感を含めたメタボリックシンドロームの発症に影響しているが、このプロセスにPin1の発現量増加が関与していることが明らかとなった。実際、Pin1の遺伝子欠損マウスは、基礎代謝が高く、肥満に抵抗性を示す。我々は、従って、Pin1の活性を抑制する薬剤を開発し、肥満やNASHへの治療薬への応用を目指しており、社会的意義も高い。

研究成果の概要(英文)：Non-shivering thermogenesis in adipocytes provides defense against low temperatures and obesity development, but the underlying regulatory mechanism remains to be fully clarified. Adipose-specific Pin1 KO (adPin1 KO) mice showed enhanced transcription of thermogenic genes, including UCP-1, and tolerance to hypothermia when exposed to cold (temperature at 4 °C). In addition, adPin1 KO mice were resistant to high fat diet-induced obesity and glucose intolerance. Searching for Pin1 binding proteins as well as subsequent overexpression and gene silencing experiments revealed that Pin1 binds to PRDM16 and thereby promotes its degradation through the ubiquitin-proteasome system. Taken together, these observations indicate Pin1 to be a negative regulator of non-shivering thermogenesis, which involves the regulation of thermogenesis in response to nutrient conditions and cold exposure.

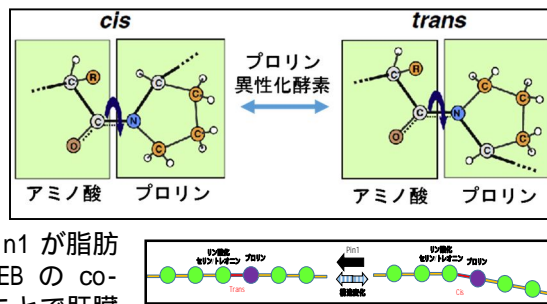
研究分野：生化学

キーワード：Pin1 脂肪細胞 熱産生 肥満 代謝

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

プロリン異性化酵素とは、プロリンとそのN端側のアミノ酸と間のペプチド結合を *cis* 体から *trans* 体に変化させることで標的タンパクの機能変化を誘導するユニークな酵素である。その代表的な一つである Pin1 は、pSer/Thr-Pro を含むモチーフに結合する特徴を有し、100 以上のターゲット蛋白の機能を変化させ、多くの生理的作用を担っている。我々は、2011 年に Pin1 が脂肪細胞への分化に必須であること、転写因子 CREB の co-activator である CRTC に結合し細胞質に留めることで肝臓からの糖新生を抑制することを見出し、世界に先駆けて、代謝調節における重要性を報告した。



2. 研究の目的

Pin1 は、細胞増殖や神経機能、代謝調節などに重要な役割を果たしていることが示されている。我々は、Pin1 が、37 と比べ 40 では分解が顕著に促進され、細胞内での含有量が顕著に減少する知見を見出した。逆に、マウスを寒冷刺激すると、脂肪や筋肉において Pin1 量が著しく増加する。

そこで、本研究では、Pin1 の温度依存性の分解を導くメカニズムを明らかにする。さらに、Pin1 が制御する糖・脂質・アミノ酸代謝酵素の同定や過栄養に伴って、Pin1 の発現が上昇する分子メカニズムを解明し、新規 Pin1 阻害薬の開発からメタボリックシンドローム治療への応用可能性の検討を進めることを、最終的な目的とする。

3. 研究の方法

温度依存性に生じる Pin1 の変化が脂質代謝に及ぼす作用：

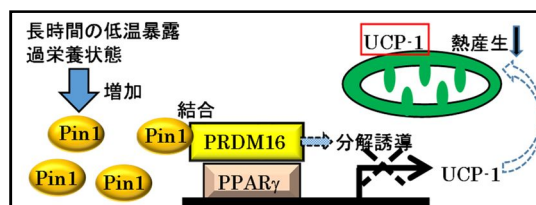
我々は、糖・脂質代謝の変化、及び、脂肪細胞からの分泌タンパク（アディポネクチン、レプチン、TNF- α 、IL-6 等）の発現制御と分泌における Pin1 の役割について検討する。我々は、ごく最近、結合タンパクの網羅的解析から、Pin1 が、中性脂肪分解酵素の adipose triglyceride lipase (ATGL) と hormone-sensitive lipase (HSL) 及び、脂肪合成に関わる Acetyl-CoA carboxylase 1 (ACC1) と fatty acid synthase (FASN) に結合することを見出した。この中で、ATGL と HSL に関しては、Pin1 が結合することで、脂肪滴への移動が抑制されることや、蛋白安定性が顕著に低下する結果を得ており、中性脂肪の分解が減少することで、脂肪蓄積に寄与していると考えられる。また、Pin1 は ACC1 と結合することで、安定化させて ACC1 量を増加させる結果も得られている。これらから、温度依存性に発現変化する Pin1 量が、脂質代謝に及ぼす影響について、詳細な分子メカニズムも含めて解明する。

温度変化によるマウス各臓器の Pin1 量の変化と、それに起因する生理的变化

我々は、マウスを 24 時間 4 に処理することによって、脂肪組織のみならず筋肉や脳においても Pin1 タンパク量が増加することを見出した。Pin1 は脳を含む神経機能への役割が有名であるが、その他の臓器にも多様な役割を果たしている。温度変化による Pin1 量の変化によって、各臓器にもたらされる影響を解明する。

4. 研究成果

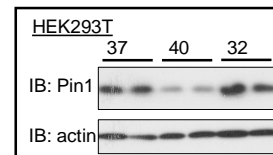
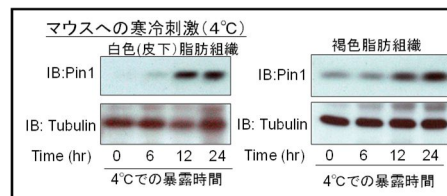
プロリン異性化酵素とは、プロリンとそのN端側のアミノ酸とのペプチド結合を、*cis* から *trans* 構造へと変化させることで、標的タンパクの活性、細胞内局在や安定性を変化させる酵素の総称である。我々は、プロリン異性化酵素 Pin1 が過栄養状態で増加し、メタボリックシンドロームの成因に関与していることを世界に先駆けて証明した。さらに、Pin1 が、転写因子 CREB の co-activator である CRTC に結合し細胞質に留めることで、肝臓からの糖新生酵素の発現を抑制することを報告した。Pin1 は AMPK のサブユニットに結合し、AMPK 活性化を抑制することも報告した。さらに、我々が独自に作成した Pin1 KO マウスを用いて、Pin1 が肥満や NASH/NAFLD の発症に必須のタンパクであることを報告した。



我々は、Pin1 が転写共役因子 PRDM16 に結合し分解を促進することで脂肪細胞において熱産生に関わる Uncoupling protein-1 (UCP-1) 発現量を抑制する結果を得た。実際、Pin1 KO マウスでは体温低下が軽度で、寒冷刺激による UCP-1 の発現増加量が顕著に高いことも判明した。さらに、最近、我々は、マウスに 4 で長時間 (24 時間) の寒冷刺激を与えてみると、脂肪細胞における Pin1 タンパクの発現が劇的に増加することを見出した。以上の結果から、長時間の寒

冷刺激(あるいは体温低下)によって脂肪細胞では、Pin1のタンパク量が増加し、その結果として、エネルギー消費の抑制と脂肪蓄積の維持によって、低温耐性に貢献しているとの仮説に至った。これは、特に、冬眠時などの長期間にわたる低温環境では重要な役割を果たしていると推測される。寒冷刺激による Pin1 量増加は、脂肪細胞ほど顕著ではないが、筋肉や脳においても、認められる。

加えて、我々は、37 と比べ 40 では、Pin1の分解が顕著に促進され、細胞内での含有量が 10%程度にまで減少する結果も得た。以上から、Pin1 タンパク量は、低温で上昇し、高温で減少するが、mRNA 量の変化を伴わず、タンパク分解速度に依存しており、生体の温度センシングに寄与している可能性が推測された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 5件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Ueda K, Nakatsu Y, Yamamotoya T, Ono H, Inoue Y, Inoue MK, Mizuno Y, Matsunaga Y, Kushiyama A, Sakoda H, Fujishiro M, Takahashi SI, Matsubara A, Asano T.	4. 巻 10
2. 論文標題 Prolyl isomerase Pin1 binds to and stabilizes acetyl CoA carboxylase 1 protein, thereby supporting cancer cell proliferation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 1637-1648
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 該当する

1. 著者名 Nakatsu Y, Matsunaga Y, Yamamotoya T, Ueda K, Inoue MK, Mizuno Y, Nakanishi M, Sano T, Yamawaki Y, Kushiyama A, Sakoda H, Fujishiro M, Ryo A, Ono H, Minamino T, Takahashi SI, Ohno H, Yoneda M, Takahashi K, Ishihara H, Katagiri H, Nishimura F, Kanematsu T, Yamada T, Asano T.	4. 巻 26
2. 論文標題 Prolyl Isomerase Pin1 Suppresses Thermogenic Programs in Adipocytes by Promoting Degradation of Transcriptional Co-activator PRDM16.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Rep	6. 最初と最後の頁 3221-3230
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 該当する

1. 著者名 Inoue MK, Yamamotoya T, Nakatsu Y, Ueda K, Inoue Y, Matsunaga Y, Sakoda H, Fujishiro M, Ono H, Morii K, Sasaki K, Masaki T, Suzuki Y, Asano T, Kushiyama A.	4. 巻 19
2. 論文標題 The Xanthine Oxidase Inhibitor Febuxostat Suppresses the Progression of IgA Nephropathy, Possibly via Its Anti-Inflammatory and Anti-Fibrotic Effects in the gddY Mouse Model.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 E3967
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 該当する

1. 著者名 Nakatsu Y, Matsunaga Y, Ueda K, Yamamotoya T, Inoue Y, Inoue MK, Mizuno Y, Kushiyama A, Ono H, Fujishiro M, Ito H, Okabe T, Asano T.	4. 巻 10
2. 論文標題 Development of Pin1 inhibitors and their potential as therapeutic agents.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Curr Med Chem.	6. 最初と最後の頁 2174
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 該当する

1. 著者名 Furuta H, Yoshihara H, Fukushima T, Yoneyama Y, Ito A, Worrall C, Girnita A, Girnita L, Yoshida M, Asano T, Komada M, Kataoka N, Chida K, Hakuno F, Takahashi SI.	4. 巻 9
2. 論文標題 IRS-2 deubiquitination by USP9X maintains anchorage-independent cell growth via Erk1/2 activation in prostate carcinoma cell line.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 33871-33883
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 該当する

[学会発表] 計5件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 井上賢紀、中津祐介、松永泰花、山本屋武、上田晃嗣、井上由貴、櫛山暁史、浅野知一郎
2. 発表標題 SGLT2阻害薬によるマウス糖尿病性腎症の改善及び、腎Pin1発現量の是正とAMPK活性化の関与
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 櫛山暁史、菊池貴子、迫田秀之、藤城緑、山本屋武、山崎広貴、中津祐介、浅野知一郎
2. 発表標題 マクロファージにおける糖代謝による活性酸素産生とインスリン抵抗性
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中津祐介、山本屋武、上田晃嗣、井上賢紀、井上由貴、櫛山暁史、浅野知一郎
2. 発表標題 プロリン異性化酵素Pin1による脂肪蓄積制御機構の解明
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤城緑、櫛山暁史、山口賢、渡辺健太郎、江頭富士子、岡本真由美、村瀬貴代、中村敬志、山本屋武、中津祐介、浅野知一郎、石原寿光
2. 発表標題 2型糖尿病を対象としたキサンチン酸化還元酵素の血管合併症発症および進展に対する影響に関する探索研究
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山本屋武、中津祐介、上田晃嗣、井上賢紀、迫田秀之、藤城緑、櫛山暁史、石原寿光、浅野知一郎
2. 発表標題 Trk-fused gene (TFG)の糖代謝調節における役割の解明
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2018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
研究 分担 者	中津 祐介 (Nakatsu Yusuke) (20452584)	広島大学・医系科学研究科(医)・講師 (15401)	