

平成22年 3月31日現在

研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2008～2009  
 課題番号：20790306  
 研究課題名（和文）新規インスリンシグナル分子WDR6を介する細胞内情報伝達経路の  
 同定とその機能解析  
 研究課題名（英文）Identification and characterization of WDR6, a novel insulin signaling  
 molecule  
 研究代表者  
 千葉 卓哉（CHIBA TAKUYA）  
 長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授  
 研究者番号：40336152

## 研究成果の概要（和文）：

我々は、視床下部特異的遺伝子 WD-repeat protein 6 (WDR6)を単離した。WDR6は脱リン酸化を制御するホスファターゼと相同性があり、さらにタンパク質-タンパク質の相互作用に重要な WD-repeat モチーフを持っている。本研究により脳において WDR6が IRS-4(インスリン受容体基質-4)と物理的に相互作用することを明らかにし、WDR6が脳における insulin/IGF-I シグナルの制御因子であることが示唆された。今後の研究により、認知症などの発症に関連する神経変性に対する治療薬開発等への応用が期待される。

## 研究成果の概要（英文）：

We have isolated WD-repeat protein 6 (WDR6), a novel hypothalamus enriched gene in rat brain tissue. Amino acid sequence revealed that WDR6 have protein phosphatase motif and WD-repeat motif that have important roles for dephosphorylation and protein-protein interaction, respectively. Our study revealed that WDR6 physically interacted with insulin receptor substate-4 (IRS-4), which is abundantly expressed in the hypothalamus. These results suggest that WDR6 could regulate insulin/IGF-I signal in brain. Further study on WDR6 functions might contribute to the development of drugs for the treatment of neurodegenerative diseases, such as cognitive disorders.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：基礎老化学、実験病理学

科研費の分科・細目：基礎医学・実験病理学

キーワード：老化、インスリンシグナル、カロリー制限、視床下部、代謝、寿命、神経内分泌

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 神経変性疾患やガン、生活習慣病の発症

リスクに「老化」が含まれている。したがって、老化を制御することが可能となれば、こ

これらの疾患の発症を抑制、または遅延させることが可能となる。酵母や線虫などの下等生物では、insulin/IGF-I 系の分子機能を改変することで実際に老化の制御が可能となっている。また多くの生物種において、食餌カロリーを制限すること (Calorie Restriction; CR) は、寿命を延長させるとともに、老化関連疾患の発症を遅延させる最も確実な介入方法として確立されている。CR による抗老化作用にも、insulin/IGF-I 系シグナルが関与していると考えられることから、このシグナルを標的とした高等生物における老化制御機構の解明が、現在世界中で盛んに行われている。

(2) 急激な速度で高齢化が進む我が国において、insulin/IGF-I 系シグナルによる老化制御機構を明らかにし、その応用により、健康で活動的な人生の期間を延長させる方法を開発する、長寿科学の推進は、科学的のみならず社会的にも重要な研究課題の一つである。これまでの研究から、視床下部が CR による抗老化作用に重要であることが明らかとなり、視床下部における insulin/IGF-I シグナルについての全容解明に向けた研究を実施してきた。

## 2. 研究の目的

(1) 視床下部における新規の神経内分泌系因子の探索を行い、CR などによる寿命延長との関連を明らかにすることを目的として研究を行った。それらの研究により単離した、新規遺伝子 WD-repeat protein 6 (WDR6) の機能解析を通じて、老化関連疾患の発症を抑制する治療法の開発や、動物個体および細胞の老化メカニズムの解明を目指して研究を行った。

(2) WDR6 は脱リン酸化を制御するタンパク質、ホスファターゼと相同性があり、さらにタンパク質-タンパク質の相互作用に重要な WD-repeat モチーフをもっているが、その機能は未知であった。本研究では、WDR6 の機能ドメインを生化学的に同定し、下流のシグナル分子の脱リン酸化制御による、神経細胞死やガン化との関連について明らかにすることを目的として研究を行った。

(3) WDR6 が関与していると示唆される insulin/IGF-I シグナル系について、主に代謝との関連についての研究を行い、老化と代謝性疾患発症との関連等の解明に向けた研究を行った。

## 3. 研究の方法

(1) WDR6 の脳における遺伝子発現を半定量的 RT-PCR、およびリアルタイム PCR によって解

析した。

(2) WDR6 に対する抗体をもちいた免疫沈降法等による結合タンパクの解析、およびウエスタンブロット法による結合タンパクのリン酸化状態の解析を、ラット脳組織抽出タンパク質をもちいて行った。

(3) 視床下部由来細胞をもちいて、insulin および IGF-I 濃度の変化が、WDR6 の遺伝子発現に与える影響について、リアルタイム PCR によって解析した。

(4) 血中 insulin/IGF-I 濃度が低下し、寿命延長を示す成長ホルモンアンチセンストランスジェニックラット、および CR ラットをもちいて視床下部弓状核における WDR6 の遺伝子発現を、リアルタイム PCR によって解析した。

(5) 上記のラットにおける、脳、肝臓、脂肪、筋肉等の各臓器における、insulin/IGF-I 系シグナルによる抗老化作用について、タンパク質生化学、および分子生物学的手法をもちいて解析した。

## 4. 研究成果

(1) WDR6 の発現が視床下部で高く、さらにインスリン受容体基質-4 (IRS-4) と結合することを明らかにした。

(2) WDR6 の結合によって、IRS-4 のリン酸化状態が調節される可能性が示唆された。

(3) Insulin および IGF-I 投与により、マウス視床下部由来細胞において WDR6 の発現が上昇した。

(4) 成長ホルモンアンチセンストランスジェニックラットおよび CR ラットの視床下部弓状核において、WDR6 の発現が低下していた。

(5) 以上の結果より、WDR6 が視床下部における insulin/IGF-I シグナルの制御因子であることが示唆された。今後さらに、遺伝子改変動物等を作製し、老化制御と WDR6 との関連性を明らかにして行く必要がある。

(6) CR の抗老化作用と関連して、脂肪細胞由来因子等の発現調節における insulin/IGF-I シグナルの役割について明らかにした。

(7) これまでの研究による成果とあわせて、insulin/IGF-I 系の、老化疾患発症における重要性がさらに明らかとなった。今後の研究による神経変性疾患に対する治療薬開発等、研究成果の応用が期待される。

## 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 12 件)

- ① Chiba T, Inoue D, Mizuno A, Komatsu T, Fujita S, Kubota H, Guimarães M, Park S, Trindade L, Hayashida T, Hayashi H, Yamaza H, Higami Y, Shimokawa I. Identification and characterization of an insulin receptor substrate 4-interacting protein in rat brain: implications for longevity. *Neurobiol Aging*. 2009, 30(3):474-82. 査読有り
  - ② Park S, Komatsu T, Hayashi H, Trindade L, Yamaza H, Chiba T, Shimokawa I. Divergent regulation of adipose tissue metabolism by calorie restriction and inhibition of growth hormone signaling. *Exp Gerontol*. 2009, 44(10):646-52. 査読有り
  - ③ Chiba T, Komatsu T, Nakayama M, Adachi T, Tamashiro Y, Hayashi H, Yamaza H, Higami Y, Shimokawa I. Similar metabolic responses to calorie restriction in lean and obese Zucker rats. *Mol Cell Endocrinol*. 2009, 309(1-2):17-25. 査読有り
  - ④ Chiba T, Yamaza H, Komatsu T, Nakayama M, Fujita S, Hayashi H, Higami Y, Shimokawa I. Pituitary growth hormone suppression reduces resistin expression and enhances insulin effectiveness: relationship with caloric restriction. *Exp Gerontol*. 2008, 43(6):595-600. 査読有り
  - ⑤ Komatsu T, Chiba T, Yamaza H, Yamashita K, Shimada A, Hoshiyama Y, Henmi T, Ohtani H, Higami Y, de Cabo R, Ingram DK, Shimokawa I. Manipulation of caloric content but not diet composition, attenuates the deficit in learning and memory of senescence-accelerated mouse strain P8. *Exp Gerontol*. 2008, 43(4):339-46. 査読有り
  - ⑥ Park S, Komatsu T, Hayashi H, Yamaza H, Chiba T, Higami Y, Kuramoto K, Shimokawa I. Calorie restriction initiated at a young age activates the Akt/PKC  $\zeta$  /  $\lambda$  -Glut4 pathway in rat white adipose tissue in an insulin-independent manner. *AGE*. 2008, 30:293-302. 査読有り
  - ⑦ Shimokawa I, Chiba T, Yamaza H, Komatsu T. Longevity Genes: Insights from Calorie Restriction and Genetic Longevity Models. *Mol Cells*. 2008, 26(5): 427-435. 査読無し
  - ⑧ Hayashi H, Yamaza H, Komatsu T, Park S, Chiba T, Higami Y, Nagayasu T, Shimokawa I. Calorie restriction minimizes activation of insulin signaling in response to glucose: potential involvement of the growth hormone-insulin-like growth factor 1 axis. *Exp Gerontol*. 2008, 43(9):827-32. 査読有り
  - ⑨ Komatsu T, Chiba T, Yamaza H, Yamashita K, Shimada A, Hoshiyama Y, Henmi T, Ohtani H, Higami Y, de Cabo R, Ingram DK, Shimokawa I. Manipulation of caloric content but not diet composition, attenuates the deficit in learning and memory of senescence-accelerated mouse strain P8. *Exp Gerontol*. 2008, 43(4):339-46. 査読有り
  - ⑩ 千葉 卓哉、下川 功: Neuropeptide Y による代謝制御と抗老化作用-ヒトへの応用に向けたCR mimetics開発の標的探索-, 基礎老化研究, 2009, 33(3):17-20. 査読有り
  - ⑪ 千葉 卓哉、下川 功: カロリー制限による抗老化作用: 代謝適応仮説とヒトへの応用の可能性, アンチエイジング医学, 2009, 5(4):53-61. 査読無し
  - ⑫ 千葉 卓哉、山座 治義、下川 功: カロリー制限による寿命延長・抗老化機構-神経内分泌仮説に基づく代謝調節の重要性-, 基礎老化研究, 2008, 32(3):15-20. 査読有り
- [学会発表] (計 6 件)
- ① Chiba T: Beneficial effects of calorie restriction: involvement of neuroendocrine system. 第32回日本分子生物学会年会、2009年12月10日、横浜
  - ② 千葉 卓哉: カロリー制限による抗老化

作用の分子メカニズム：代謝・老化・寿命調節における中枢の役割 第32回日本基礎老化学会大会、2009年6月20日、横浜

- ③ 千葉 卓哉: カロリー制限による代謝の変化におけるneuropeptide Yの重要性 第32回日本基礎老化学会大会、2009年6月20日、横浜
- ④ Chiba T: Anti-aging effects of calorie restriction: Importance of neuroendocrine adaptation. The 2nd Hallym-Nagasaki international joint meeting on aging and neurodegenerative diseases, 2009年2月9日, Seoul, Korea

〔産業財産権〕

○出願状況 (計2件)

名称：カロリー制限模倣物のスクリーニング方法

発明者：千葉 卓哉、土谷 智史、下川 功、国立大学法人長崎大学

権利者：同上

種類：特許

番号：特願 2009-189136

出願年月日：平成21年8月18日

国内外の別：国内

名称：Gene related to life extension and use thereof

発明者：千葉 卓哉、下川 功、樋上 賀一、山座 治義、国立大学法人長崎大学

権利者：同上

種類：特許

番号：W02008/111520

出願年月日：平成20年9月18日

国内外の別：国外

○取得状況 (計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.nagasaki-u.ac.jp/pathlgy1/index/index.htm>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

千葉 卓哉 (CHIBA TAKUYA)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：40336152

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：