

平成22年 5月 31日現在

研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：###+~###,  
 課題番号：20790646  
 研究課題名（和文） 代謝症候群における分子標的としての低分子量 G 蛋白質関連分子 ROCK2  
 の意義  
 研究課題名（英文） Role of Rho-associated kinase 2 in metabolic syndrome

研究代表者  
 野口 倫生（NOGUCHI MICHIO）  
 京都大学・医学研究科・特定研究員  
 研究者番号：00432394

研究成果の概要（和文）：我々は ROCK2 の抑制が脂肪細胞分化を促進させることを明らかにし、そのメカニズムとして ROCK2 の阻害による Akt リン酸化の亢進が寄与すると考えられる。また ROCK 阻害薬が脂肪細胞分化を負に調節する転写共役因子の発現を低下させることを見出し、新しい分子機構の解明に取り組んでいる。ROCK2 ヘテロノックアウトマウスの糖代謝に関して標準食、高脂肪食負荷の両者において野生型と有意な差は認めなかった。今後、組織特異的ノックアウトマウス等での解析が必要である。

研究成果の概要（英文）：We demonstrate that inhibition of ROCK2, not ROCK1, enhances adipogenesis accompanied by the upregulation of adipogenic transcription factors. Augmentation of insulin signaling may contribute to the enhancement of adipogenesis. Furthermore, we focus on a cofactor as a novel mechanism associated with this pathway. ROCK2 heterozygous mice did not exhibit significant differences in metabolic parameters on standard chow and high fat diet compared with wild-type mice. Further studies will be needed.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：ROCK2、メタボリックシンドローム、脂肪細胞分化

## 1. 研究開始当初の背景

心筋梗塞や脳梗塞などの動脈硬化性疾患の

リスクファクターである肥満、高血圧、耐糖能障害、脂質代謝異常が同一個体に集積する

病態は 1980 年代より syndrome X、死の四重奏、インスリン抵抗性症候群、内臓肥満症候群などの名称で呼ばれてきた。近年になり、その基盤病態が内臓脂肪蓄積であることに着目したメタボリックシンドロームと呼ばれる疾患概念に統一されつつある。

一方、Rho-ROCK pathway はアクチン線維の再構築を介した細胞骨格の制御やその他の多彩な生理機能をつかさどる。メタボリックシンドロームと細胞骨格制御については従来から骨格筋における糖代謝異常と細胞骨格との関連が指摘されており、最近の研究が Rho-ROCK pathway が肥満、糖代謝異常、高血圧などの病態形成に関与する可能性が示唆されている。Rho-ROCK pathway がメタボリックシンドロームの異なる構成要素に対しての共通の分子標的として注目され、今後の研究の進展と臨床応用が期待される。

## 2. 研究の目的

研究代表者らの研究成果から ROCK が PPAR $\gamma$  の発現調節やインスリンシグナルとのクロストークに関与することが示唆され、メタボリックシンドロームの基盤病態に対する分子標的として ROCK2 の意義を検討する。ROCK は血管を含めたインスリン標的臓器に発現を認め、阻害薬の開発も行なわれており将来、降圧作用、抗糖尿病作用を併せ持つ薬剤の開発につながる可能性を秘めている。主に脂肪細胞分化と糖代謝に関する検討を行う。

## 3. 研究の方法

### (1) ROCK による脂肪細胞分化調節の分子機構の解明

3T3-L1 細胞および骨髄間葉系幹細胞を用いて ROCK の脂肪細胞分化調節の分子機構の解明を行う。また間葉系幹細胞における ROCK

阻害薬投与および、ROCK 阻害薬と TZD の共投与による効果の検討を行う。遺伝子発現の比較等により幹細胞における ROCK による細胞系譜決定に関わる候補遺伝子の同定を試みる。

### (2) ROCK2 の糖代謝における生理的及び病態生理的意義に関する検討

ROCK2 ヘテロノックアウトマウスの代謝プロファイルについて標準食及び高脂肪食負荷 (DIO) にて検討する。

### (3) メタボリックシンドロームにおける ROCK 阻害薬の抗糖尿病薬としての意義についての検討

高脂肪食負荷マウス (DIO) などにおいて ROCK 阻害薬 (Y-27632、fasudil) を投与し代謝プロファイルの検討を行う。

## 4. 研究成果

これまで我々は ROCK2 の抑制が PPAR $\gamma$  や C/EBP $\alpha$  の発現を著明に亢進させ、脂肪細胞分化を促進させることを明らかにしてきた。2 種類の ROCK 阻害薬 (Y-27632, fasudil) は脂肪細胞分化を促進させ、PPAR $\gamma$  や C/EBP $\alpha$  の発現を著明に亢進させた。ROCK2  $-/-$  MEF は wild type と比較し、著明に脂質蓄積が亢進し、PPAR $\gamma$  や C/EBP $\alpha$  の発現も有意に上昇した。ROCK2 siRNA を導入後、脂肪細胞分化を検討すると control 群と比較し PPAR $\gamma$  や C/EBP $\alpha$  の発現が有意に上昇した。そのメカニズムとして ROCK2 の阻害による Akt リン酸化の亢進が寄与すると考えられる (*J Biol Chem* 282: 29574-83, 2007)。

骨髄由来間葉系幹細胞において ROCK 阻害薬投与群は非投与群と比較し著明に脂肪細胞分化を促進させた。さらに ROCK 阻害薬とチアゾリジン誘導体の共投与は単独投与と比較し、脂肪細胞分化を促進させた。Rho-ROCK pathway の活性化は間葉系幹細胞から分化しうる他の細胞系譜である筋芽細胞

や骨芽細胞への分化を促進させることも知られている。我々は現在、Rho-ROCK pathway による間葉系幹細胞の細胞系譜決定の新たな分子メカニズムに焦点を当て、各細胞系譜の鍵転写因子の発現調節に関わる分子を絞り込み解析を進めている。最近の検討から ROCK 阻害薬投与により脂肪細胞分化を負に調節する転写共役因子の発現が抑制されることが明らかとなっている。ROCK 阻害薬は主にインスリンシグナルの亢進と PPAR $\gamma$  の発現増強作用を併せ持つことから糖尿病治療薬としての可能性が期待できる。

ROCK2 の in vivo における肥満、糖代謝に対する意義についての解析では標準食で ROCK2 ヘテロノックアウトマウスの体重、血糖値、糖負荷試験に関して野生型と有意な差は認めなかった。高脂肪食負荷においても体重、血糖値、糖負荷試験において有意な差は認めなかった。表現型で顕著な差を認めないためにヘテロノックアウトマウスのインスリン標的臓器での遺伝子発現解析等の詳細な解析が必要と考えられる。糖代謝における ROCK の意義を検証するためには今後、組織特異的ノックアウトマウスの作製と糖代謝等に関する解析が必要となる。さらにメタボリックシンドロームの病態形成における Rho-ROCK pathway の意義(図)と治療介入については血管構成細胞やマクロファージにおける ROCK の意義の解明が今後の重要課題である。

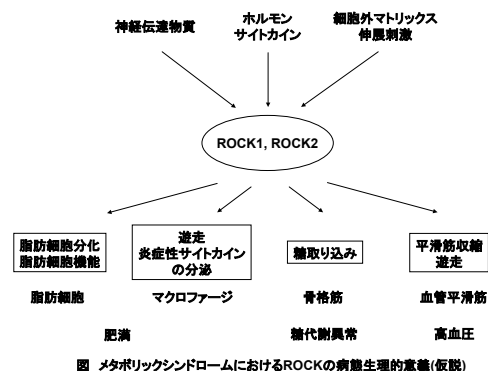


図 メタボリックシンドロームにおけるROCKの病態生理的意義(仮説)

## 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3件)

1. D. Taura\*, M. Noguchi\*(\* equally contributed), M. Sone, K. Hosoda, E. Mori, Y. Okada, K. Takahashi, K. Homma, N. Oyamada, M. Inuzuka, T. Sonoyama, K. Ebihara, N. Tamura, H. Itoh, H. Suemori, N. Nakatsuji, H. Okano, S. Yamanaka, K. Nakao  
Adipogenic differentiation of human induced pluripotent stem cells: comparison with that of human embryonic stem cells  
*FEBS Lett.* 583(6):1029-33. 2009, 査読有
2. T. Ishii-Yonemoto, H. Masuzaki, S. Yasue, S. Okada, C. Kozuka, T. Tanaka, M. Noguchi, T. Tomita, J. Fujikura, Y. Yamamoto, K. Ebihara, K. Hosoda, K. Nakao  
Glucocorticoid reamplification within cells intensifies NF $\kappa$ B andMAPK signaling and reinforces inflammation in activated preadipocytes,  
*Am J Physiol Endocrinol Metab*,298: 930-940. 2009, 査読有
3. M. Noguchi, K. Hosoda, J. Fujikura, M. Fujimoto, H. Iwakura, T. Tomita, T. Ishii, N. Arai,

M. Hirata, K. Ebihara, H. Masuzaki, H. Itoh, S. Narumiya, K. Nakao.

Genetic and pharmacological inhibition of Rho-associated kinase II enhances adipogenesis. *J Biol Chem.* 282:29574-29583, 2007, 査読有

〔学会発表〕（計 1 件）

1. Role of Rho-associated kinase II in adipogenesis, 野口倫生,

14th International Congress of Endocrinology

2010/3/28, 京都国際会館

〔図書〕（計 2 件）

1. 日本肥満学会誌「肥満研究」, 脂肪細胞分化における Rho-ROCK pathway の意義, 日本肥満学会, 野口倫生、細田公則、中尾一和, 4 ページ, 2009

2. 分子細胞治療 特集 細胞骨格制御と疾患, メタボリックシンドロームと細胞骨格, 先端医学社, 野口倫生、細田公則、中尾一和, 6 ページ, 2009

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

野口倫生 (NOGUCHI MICHIO)

京都大学・大学院医学研究科・特定研究員

研究者番号：00432394