

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03732

研究課題名(和文) 栄養状態に依存する筋肉機能制御と代謝異常におけるプロリン異性化酵素Pin1の役割

研究課題名(英文) Role of Pin1 in the muscle function and metabolic regulation

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) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：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。最近、我々は、骨格筋のPin1は筋量や筋繊維タイプに影響を与えることなく、最大筋力や持久力を向上させる役割を有することを新たに見出した。そのメカニズムの一つとして、Pin1に結合し、しかも筋収縮に関与する蛋白として、細胞内カルシウムを制御するCalsequestrin 1 (CASQ1)とSERCA1を候補として同定した。さらに、我々は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HSLとATGL及び、脂肪合成に関わるACC1に直接、結合することを見出し、脂肪蓄積におけるPin1の関与を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々は、Pin1が筋肉の機能や各種臓器における脂肪蓄積に関与することを見出して報告した。これらの結果は、Pin1の機能を変化させることで、治療方法になりうることを示唆するものである。実際、我々は、その目的で多数の新規Pin1阻害薬の合成を続けており、臨床応用を目指している。もし、実用化できれば、社会的な有用性は非常に高いことから、本研究の意義は、学術的な面に留まらず、社会的にも大きなものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Pin1 play an important role on the process of cell growth and metabolic regulation. We revealed that muscle Pin1 contribute to the enhancement of power and endurance of muscle function. In terms of its underlying mechanism, we identified Calsequestrin 1 (CASQ1) and SERCA1 as novel Pin1 target proteins. In addition, we demonstrated that Pin1 binds to the enzymes of lipid metabolism such as ACC1, FASN1 and ATGL. By altering such enzymes, Pin1 induces the accumulation of lipid in adipocytes and livers. Such mechanism is related to the pathogenesis of obesity-related disorders, including diabetes mellitus and NASH. Therefore, we speculate that Pin1 inhibitors could be a novel drug to treat these diseases.

研究分野：病態生化学

キーワード：Pin1 筋肉 脂質代謝

## 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。プロリン異性化酵素はFKBP、cyclophilin、Pin1の3種類に大別され、それぞれ異なった標的タンパクに作用する。Pin1は、pSer/Thr-Proを含むモチーフを有する標的タンパクに作用する特徴を有する。しかし、intactな細胞内でプロリンの構造変化を検出する方法が確立していないため、この研究分野には未知の部分が多く残されている。我々は、プロリン異性化酵素Pin1が、過栄養状態のマウスの肝臓、筋肉、脂肪組織で顕著(5-10倍程度)に増加することを見出し、糖・脂質代謝異常への関与について解明を進めてきた。肝や脂肪細胞では、Pin1は多数のシグナル伝達や転写因子に結合することで、脂肪蓄積や脂肪細胞分化促進の一方、熱産生の抑制因子であることを報告してきた。

## 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。最近、我々は、骨格筋のPin1は筋量や筋繊維タイプに影響を与えることなく、最大筋力や持久力を向上させる役割を有することを新たに見出したので、今回、そのメカニズムを解明する。さらに、我々の最近のデータから、肝や脂肪において、Pin1は、複数の糖・脂質酵素に直接的に結合することが判明してきた。そこで、Pin1に制御される酵素群を明らかにし、その作用メカニズムと意義について解明する。さらに、脂肪細胞やマクロファージ、肝細胞に関しては、糖・脂質代謝酵素を含めてPin1標的タンパクの同定から代謝制御メカニズムの解明を一層、進め、肥満や糖・脂質代謝異常に対する新規治療方法としての応用につなげることを、最終的な目的とする。

## 3. 研究の方法

筋肉特異的Pin1 KOマウスと正常マウスの間で、筋量や筋繊維タイプには全く変化がないのも関わらず、持久力と筋力が顕著に低下していることを見出した。そこで、免疫沈降からLC/MS/MSを用いる手法を用いて、Pin1結合タンパクの網羅的な同定を行い、筋肉の収縮機能に関係するものを同定し、Pin1が筋力や筋持久力に与える影響を解明する。

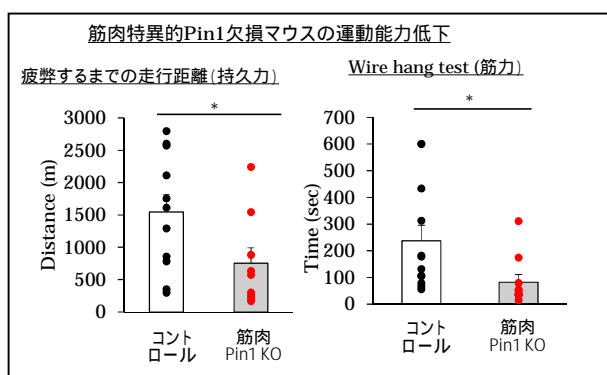
骨格筋のPin1が全身的な糖・脂質代謝や発熱能力に対する筋肉のPin1の影響について検討する。普通食及び高脂肪食をwild-type及び筋肉特異的Pin1 KOマウスに5週間負荷し、体重、糖代謝への影響(グルコース負荷試験やインスリン負荷試験等)、血清脂質パラメーター、筋肉のミトコンドリア関連遺伝子の発現量等について検討する。

我々は、現在までに、代謝調節に重要な複数のシグナル伝達や転写調節因子にPin1が結合し、糖・脂質代謝異常や炎症の惹起に関与していることを証明してきた。近年、Pin1は解糖系酵素PGK1とPKM2に結合し、これらの細胞内局在と機能を変化させることが報告された。おそらく、Pin1は、これら以外にも複数の代謝酵素に直接的に結合し、機能に影響を与えている可能性が高い。本計画期間中に、我々は、可能な限り多くの糖・脂質代謝に加えアミノ酸代謝に関わる酵素群に対しても、網羅的にPin1との結合の有無を検討する。

## 4. 研究成果

脂肪、筋肉、肝におけるPin1蛋白量は過栄養状態で顕著に増加する。Pin1 KOマウスの表現型が示すように、単純に解釈すると、肝や脂肪細胞では、Pin1は脂肪蓄積や炎症などの代謝異常に関係する「悪者」の因子である。

一方、筋肉では、Pin1は筋量や繊維タイプに変化を与えず、筋力や筋持久力向上させる「善者」としての役割を担っている。高栄養状態と2日間の絶食状態を比較すると、Pin1量には20倍程度の差が認められる。従って、「空腹で力が出ない」という現象は、脳を介するメカニズムではなく、筋肉におけるPin1量の減少によって説明可能であり、非常に興味深い。実際、筋肉特異的Pin1 KOマウスを作成したところ、筋量や筋繊維



という現象は、脳を介するメカニズムではなく、筋肉におけるPin1量の減少によって説明可能であり、非常に興味深い。実際、筋肉特異的Pin1 KOマウスを作成したところ、筋量や筋繊維

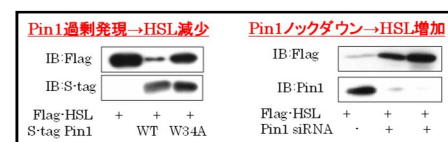
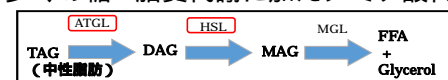
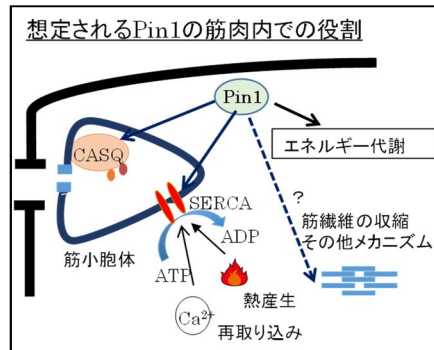
タイプには全く変化がないのも関わらず、持久力と筋力が顕著に低下していることを見出した。

我々は、Pin1 に結合し、しかも筋収縮に関与する蛋白として、細胞内カルシウムを制御する Calsequestrin 1 (CASQ1) と SERCA1 を候補として同定した。CASQ1 は、筋小胞体内においてカルシウムイオンを保持し、また SERCA1 は細胞質から筋小胞体内へカルシウムイオンを取り込む働きをする。

一方、最近、我々は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 HSL と ATGL 及び、脂肪合成に関わる ACC1 に直接、結合することを見出した。特記すべきことに、Pin1 は中性脂肪分解酵素である HSL と

ATGL に強く結合して分解を促進する一方 (HSL: 下図)、脂肪合成に関与する ACC1 に対しては安定化させて発現量を増加させることが判明した。そこで、HSL や ATGL 内で Pin1 が結合するために必要なリン酸化修飾やそれに関与するキナーゼの同定も含め、メカニズムの解明を進める。また、脂質合成酵素に関しては、Pin1 は ACC1 との結合は比較的、強固である一方、FASN への結合性はやや弱い。これらについても何らかの役割を推測しており、詳細な検討を進めている。おそらく、Pin1 は、これら以外にも複数の代謝酵素に直接的に結合し、機能に影響を与えている可能性が高い。本計画期間中に、我々は、可能な限り多くの糖・脂質代謝に加えアミノ酸代謝に関わる酵素群に対しても、網羅的に Pin1 との結合の有無を検討している最中である。

上記の基礎的研究と並行して、我々は、過栄養で過剰に増えている Pin1 を適切に抑制することによるメタボリックシンドローム治療方法の開発を目指してきた。そこで、数年前から、Pin1 機能を調節する化合物の探索・合成・評価を、東京大学創薬機構 (岡部教授)、東京薬科大学 (伊藤教授) の教室と共同開発を進めている。その結果、Pin1 機能を抑制する複数の新規化合物の創出に成功し、3 件の物質特許と 1 件の用途特許を国内及び海外に出願済みである。今後の進め方として、基礎的研究の根拠に基づく、創薬への応用を目指しており、全力を尽くして推進する所存である。



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 4件／うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Yamamotoya T, Nakatsu Y, Kanna M, Hasei S, Ohata Y, Encinas J, Ito H, Okabe T, Asano T, Sakaguchi T.	4. 巻 11
2. 論文標題 Prolyl isomerase Pin1 plays an essential role in SARS-CoV-2 proliferation, indicating its possibility as a novel therapeutic target.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports.	6. 最初と最後の頁 18581
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-97972-3	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 -
1. 著者名 Yamamotoya T, Hasei S, Akasaka Y, Ohata Y, Nakatsu Y, Kanna M, Fujishiro M, Sakoda H, Ono H, Kushiyama A, Misawa H, Asano T.	4. 巻 12
2. 論文標題 Involvement of neuronal and muscular Trk-fused gene (TFG) defects in the development of neurodegenerative diseases	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports.	6. 最初と最後の頁 1966
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-05884-7	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 -
1. 著者名 Fujishiro M, Ishihara H, Ogawa K, Murase T, Nakamura T, Watanabe K, Sakoda H, Ono H, Yamamotoya T, Nakatsu Y, Asano T, Kushiyama A.	4. 巻 9
2. 論文標題 Impact of Plasma Xanthine Oxidoreductase Activity on the Mechanisms of Distal Symmetric Polyneuropathy Development in Patients with Type 2 Diabetes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomedicines .	6. 最初と最後の頁 1052
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/biomedicines9081052.	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 -
1. 著者名 Matsunaga Y, Hasei S, Yamamotoya T, Honda H, Kushiyama A, Sakoda H, Fujishiro M, Ono H, Ito H, Okabe T, Asano T, Nakatsu Y.	4. 巻 10
2. 論文標題 Pathological Role of Pin1 in the Development of DSS-Induced Colitis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cells.	6. 最初と最後の頁 1230
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cells10051230.	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 -

1. 著者名 Hayashi M, Iwashita M, Nishimura Y, Shinjo T, Sano T, Yamashita A, Fukuda T, Sanui T, Asano T, Nishimura F.	4. 巻 9
2. 論文標題 Adipose-specific C-C motif chemokine ligand (CCL) 19 overexpression drives the mice to both insulin resistance and weight gain.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMJ Open Diabetes Res Care.	6. 最初と最後の頁 e001871
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/bmjdr-2020-001871.	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 -

1. 著者名 Hasei S, Yamamotoya T, Nakatsu Y, Ohata Y, Itoga S, Nonaka Y, Matsunaga Y, Sakoda H, Fujishiro M, Kushiya A, Asano T.	4. 巻 22
2. 論文標題 Carnosic Acid and Carnosol Activate AMPK, Suppress Expressions of Gluconeogenic and Lipogenic Genes, and Inhibit Proliferation of HepG2 Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci .	6. 最初と最後の頁 4040
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22084040.	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 -

1. 著者名 Hasei S, Yamamotoya T, Nakatsu Y, Ohata Y, Itoga S, Nonaka Y, Matsunaga Y, Sakoda H, Fujishiro M, Kushiya A, Asano T.	4. 巻 22
2. 論文標題 Carnosic Acid and Carnosol Activate AMPK, Suppress Expressions of Gluconeogenic and Lipogenic Genes, and Inhibit Proliferation of HepG2 Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci .	6. 最初と最後の頁 4040
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22084040.	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, Yamamotoya T, Okumura M, Ishii T, Kanamoto M, Naito M, Nakanishi M, Aoyama S, Matsunaga Y, Kushiya A, Sakoda H, Fujishiro M, Ono H, Asano T.	4. 巻 115
2. 論文標題 Prolyl isomerase Pin1 interacts with adipose triglyceride lipase and negatively controls both its expression and lipolysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Metabolism	6. 最初と最後の頁 154459
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.metabol.2020.154459.	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 Sanada T, Sano T, Sotomaru Y, Alshargabi R, Yamawaki Y, Yamashita A, Matsunaga H, Iwashita M, Shinjo T, Kanematsu T, Asano T, Nishimura F.	4. 巻 22
2. 論文標題 Anti-inflammatory effects of miRNA-146a induced in adipose and periodontal tissues	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Rep	6. 最初と最後の頁 100757
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrep.2020.100757.	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, Yamamotoya T, Ueda K, Ono H, Inoue MK, Matsunaga Y, Kushiyama A, Sakoda H, Fujishiro M, Matsubara A, Asano T.	4. 巻 470
2. 論文標題 Prolyl isomerase Pin1 in metabolic reprogramming of cancer cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Lett.	6. 最初と最後の頁 106-114
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.canlet.2019.10.043.	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8件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 中津 祐介、山本屋 武、長谷井 竣、迫田 秀之、藤城 緑、榊山 暁史、浅野 知一郎
2. 発表標題 ロリン異性化酵素Pin1は、骨格筋のSERCA1/2機能を制御し、全身の代謝調節に関与する
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山本屋 武、長谷井 竣、中津 祐介、迫田 秀之、藤城 緑、榊山 暁史、浅野 知一郎
2. 発表標題 脂肪細胞のTrk-fused gene (TFG) はPPAR 発現量およびミトコンドリア機能を調節し、adipose expansionに重要である
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長谷井 竣、山本屋 武、中津 祐介、迫田 秀之、藤城 緑、櫛山 暁史、浅野 知一郎
2. 発表標題 Trk-fused gene (TFG) の骨格筋機能および肥満発症における役割
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤城 緑、櫛山 暁史、小川 克彦、渡邊 健太郎、江頭 富士子、岡本 真由美、村瀬 貴代、中村 敬志、赤利 精梧、迫田 秀之、小野 啓、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プリン体代謝関連物質の血管合併症発症および進展に対する影響の研究（続報）
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中津 祐介、山本屋 武、長谷井 竣、迫田 秀之、藤城 緑、櫛山 暁史、浅野 知一郎
2. 発表標題 プロリン異性化酵素Pin1は、骨格筋のSERCA1/2機能を制御し、全身の代謝調節に関与する
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本屋 武、長谷井 竣、中津 祐介、迫田 秀之、藤城 緑、櫛山 暁史、浅野 知一郎
2. 発表標題 脂肪細胞のTrk-fused gene (TFG) はPPAR 発現量およびミトコンドリア機能を調節し、adipose expansionに重要である
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 長谷井 竣、山本屋 武、中津 祐介、迫田 秀之、藤城 緑、櫛山 暁史、浅野 知一郎
2. 発表標題 Trk-fused gene (TFG) の骨格筋機能および肥満発症における役割
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤城 緑、櫛山 暁史、小川 克彦、渡邊 健太郎、江頭 富士子、岡本 真由美、村瀬 貴代、中村 敬志、赤利 精梧、迫田 秀之、小野 啓、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プリン体代謝関連物質の血管合併症発症および進展に対する影響の研究(続報)
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020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)・准教授  (15401)	
研究分担者	山本屋 武 (Yamamotoya Takeshi)  (50760013)	広島大学・医系科学研究科(医)・助教  (15401)	
研究分担者	神名 麻智 (Kanna Machi)  (10619365)	広島大学・医系科学研究科(医)・助教  (15401)	

#### 7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件



8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------