

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 29 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010 年度～2011 年度

課題番号：22790851

研究課題名（和文） 摂食に伴う肝臓での小胞体ストレスのインスリン感受性に及ぼす作用の検討

研究課題名（英文） Impact of feeding-induced hepatic endoplasmic reticulum stress on insulin sensitivity

研究代表者

笹子 敬洋（SASAKO TAKAYOSHI）

東京大学・医学部附属病院・特任助教

研究者番号：20550429

研究成果の概要（和文）：これまで摂食が生理的に肝臓での小胞体ストレスを惹起することを明らかにしてきたが、今回その機序として、インスリンシグナルと蛋白摂取の双方が重要であることを明らかにした。またその際に、重要な小胞体ストレス調節因子と考えられる Sdf211 の発現は誘導を受けるが、その調節は ATF6 と XBP1 の両転写因子によってなされていることも明らかとなった。更に本分子の機能解析のため、肝臓特異的 Sdf211 欠損マウスを作製しており、ヘテロ欠損マウスの獲得に成功している。

研究成果の概要（英文）：Feeding physiologically induces hepatic endoplasmic reticulum (ER) stress, and the induction is mainly attributed to insulin signaling and protein intake. Sdf211, a novel ER stress modulator which we have focused on, is regulated at the level of transcription by ATF6 and XBP1, both *in vitro* and *in vivo*. We have been producing mice with Sdf211 ablated in a liver-specific manner, and already succeeded in obtaining hetero-knockout mice.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

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：糖尿病、肝臓、摂食、小胞体ストレス、インスリンシグナル

## 1. 研究開始当初の背景

糖脂質代謝において肝臓が果たす役割は、絶食時と摂食時で大きく変化し、その調節機構の破綻は病態形成にも寄与する。その一方で、その詳細については依然明らかとなっていない。

そこで我々はマイクロアレイ解析の結果を基に、摂食が肝臓において、生理的一過性に

小胞体ストレスを惹起することを見出した。併せて、絶食時と比較して再摂食時における発現変化が顕著であった、新規小胞体ストレス調節因子である Sdf211 に着目した。野生型マウスによって、Sdf211 のノックダウンによってインスリン抵抗性が惹起された一方、肥満・糖尿病モデルマウスでその発現を補充すると、耐糖能の改善を認めた。

しかしながら摂食がどのように小胞体ストレスを惹起するのか、Sdf211 がそれをどのように調節するのかについては、未だ明らかではなかった。

## 2. 研究の目的

- (1) 摂食が小胞体ストレスを誘導する機序を明らかにする
- (2) Sdf211 の発現調節機構、及びその機能を解析する
- (3) Sdf211 が果たす生理的役割の詳細を検討する

## 3. 研究の方法

- (1) 摂食時に肝臓で蛋白合成を増加させるシグナルとして、インスリンと蛋白摂取に着目し、STZ 投与でインスリン分泌を枯渇させたマウス、並びに無蛋白食を与えたマウス、更に STZ 投与後に無蛋白食を与えたマウスを作製し、各々条件において摂食に伴う小胞体ストレスがどのような変化を受けるか、検討した。
- (2) 主に培養細胞系を用いて、Sdf211 の転写調節を制御する転写因子を同定した。また Sdf211 が、シャペロンとして中心的な役割果たす分子である BiP と相互作用を有するとの仮説の元、その有無を共免沈の手法を用いて解析した。
- (3) 肝臓特異的 Sdf211 欠損マウスの作製を、各種遺伝子改変マウスとの交配を繰り返すことによって進めた。

## 4. 研究成果

- (1) 摂食時の小胞体ストレスの誘導は STZ 投与マウスでも、無蛋白食負荷マウスでも減弱した。更に、STZ 投与マウスに無蛋白食を与えると更なる減弱を示した。このことから、インスリンシグナルと蛋白摂取の双方が重要と考えられた。
- (2) ラット肝細胞の培養細胞系である Fao 細胞を用い、プロモーター解析を行なったところ、ATF6 と XBP1 の過剰発現により、両転写因子ともに Sdf211 のプロモーター活性を正に制御した。更に摂食時の肝臓において、クロマチン免疫沈降法による解析も行なった。これにより、確かに両転写因子が Sdf211 のプロモーター領域に結合していることを確かめた。
- (3) Sdf211 遺伝子は 3 つのエクソンから成るが、そのうちエクソン 2 の 5' 側に loxP を、3' 側に FRT で挟まれたネオマイシン耐性遺伝子と loxP を、それぞれ挿入した Sdf211-flxed マウスを作製した。まずこれを全身で FLPe を発現する ACTB-FLPe マウスと交配し、FRT に挟まれたネオマイシン耐性遺伝子を除去した。次にこのマウスを、肝臓特異的に cre を発現する Alb-cre マウスと交

配した。これにより現在、肝臓特異的 Sdf211 ヘテロ欠損マウスまでを獲得することに成功した。

## 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 1 件)

1. 笹子 敬洋、植木 浩二郎、門脇 孝：インスリン抵抗性と小胞体ストレス. Diabetes J 393, 109-114, 2011 年 9 月, 査読なし.

[学会発表] (計 19 件)

1. 笹子 敬洋：新規小胞体ストレス調節因子 Sdf211 による肝臓でのインスリン感受性調節作用の検討  
第 5 回「システム疾患生命科学による先端医療技術開発」シンポジウム (2012 年 2 月 24 日, 東京・東京大学)
2. 笹子 敬洋：新規小胞体ストレス調節因子 Sdf211 による肝臓でのインスリン感受性調節作用の検討  
第 26 回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会 (2012 年 2 月 18 日, 名古屋・愛知県産業労働センター)
3. 笹子 敬洋：新規小胞体ストレス調節因子 Sdf211 による肝臓でのインスリン感受性調節作用の検討  
第 23 回分子糖尿病学シンポジウム (2011 年 11 月 26 日, 熊本・くまもと県民交流館パレア, 若手研究奨励賞)
4. 笹子 敬洋：新規小胞体ストレス調節因子 Sdf211 による摂食時の肝臓でのインスリン感受性調整作用の検討  
第 25 回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会 (2011 年 11 月 5 日, 東京・東京大学)
5. Takayoshi Sasako: Role of Sdf211, a novel ER stress-related protein, in the regulation of insulin sensitivity.  
The 16th Korea-Japan Symposium on Diabetes Mellitus (2011 年 10 月 21 日, 日本・千葉・ヒルトン東京ベイ)
6. 笹子 敬洋：新規小胞体ストレス調節因子 Sdf211 による肝臓でのインスリン感受性調節作用の検討  
第 61 回日本体質医学会総会 (2011 年 10 月 8 日, 東京・日本橋ビジネスセンター)
7. 笹子 敬洋：新規小胞体ストレス調節因子

Sdf211 による摂食時の肝臓でのインスリン感受性調節作用の検討

第 32 回日本肥満学会年次学術集会 (2011 年 9 月 24 日, 淡路・淡路夢舞台国際会議場)

8. 笹子 敬洋: 新規小胞体ストレス調節因子 Sdf211 による肝臓でのインスリン感受性調節作用の検討

第 23 回高遠・分子細胞生物学シンポジウム (2011 年 8 月 19 日, 伊那・高遠さくらホテル)

9. 笹子 敬洋: 新規小胞体ストレス調節因子 Sdf211 による摂食時の肝臓でのインスリン感受性調節作用の検討

第 11 回東京大学生命科学シンポジウム (Todai BIO 2011) (2011 年 6 月 30 日, 東京・東京大学)

10. Takayoshi Sasako: Role of Sdf211, a novel ER stress-related protein, in the regulation of insulin sensitivity.

The 71st Scientific Sessions of the American Diabetes Association 2011 (2011 年 6 月 26 日, 米国・サンディエゴ・San Diego Convention Center)

11. 笹子 敬洋: 新規小胞体ストレス調節因子 Sdf211 による摂食時の肝臓でのインスリン感受性調節作用の検討

第 47 回日本肝臓学会総会 (2011 年 6 月 3 日, 東京・ホテルグランパシフィック LE DAIBA, 優秀演題賞)

12. 笹子 敬洋: 新規小胞体ストレス調節因子 Sdf211 による肝臓でのインスリン感受性調節作用の検討

第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2011 年 5 月 19 日, 札幌・札幌市教育文化会館, 若手研究奨励賞)

13. 笹子 敬洋: 新規小胞体ストレス調節因子 Sdf211 による摂食時の肝臓でのインスリン感受性調節作用の検討

第 84 回日本内分泌学会学術集会 (2011 年 4 月 22 日, 神戸・神戸国際会議場)

14. Takayoshi Sasako: Impact of Sdf211, a novel ER stress-related protein, on the regulation of hepatic insulin resistance.

第 3 回 Insulin Resistance in Metabolic Disease Forum (2010 年 11 月 21 日, 福岡・ホテル日航福岡)

15. 笹子 敬洋: 新規小胞体ストレス調節因子 Sdf211 による摂食時の肝臓でのインスリン感受性調節作用の検討

第 31 回日本肥満学会 (2010 年 10 月 1 日, 前橋・前橋テルサ)

16. 笹子 敬洋: Impact of Sdf211, a novel ER stress-related protein, on the regulation of hepatic insulin resistance.

第 7 回インスリン抵抗性とメタボリックシンドローム研究会 (2010 年 7 月 3 日, 東京・インターコンチネンタル東京ベイ)

17. Takayoshi Sasako: Role of Sdf211, a novel ER stress-related protein, in the regulation of insulin sensitivity.

The 70th Scientific Sessions of the American Diabetes Association 2010 (2010 年 6 月 28 日, 米国・オーランド・Orange County Convention Center)

18. 笹子 敬洋: 摂食に伴う肝臓での小胞体ストレスのインスリン感受性に及ぼす作用の検討

第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2010 年 5 月 27 日, 岡山・岡山全日空ホテル)

19. 笹子 敬洋: 新規小胞体ストレス調節因子 Sdf211 による摂食時の肝臓でのインスリン感受性調節作用の検討

第 3 回臓器間ネットワークと血管生物学から読み解くメタボリックシンドローム研究会 (2010 年 5 月 15 日, 東京・六本木アカデミーヒルズ)

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

笹子 敬洋 (SASAKO TAKAYOSHI)

東京大学・医学部附属病院・特任助教

研究者番号：20550429

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：