

課題番号 : 28指1203

研究課題名 : 生活習慣病創薬のための分子標的の同定に資する新規代謝制御エピジェネティクスの解明

主任研究者名 : 松本 道宏

分担研究者名 : 該当なし

キーワード : 創薬標的、糖尿病、メタボリックシンドローム、エピジェネティクス、長鎖非コード RNA

研究成果 : 2型糖尿病や肥満症などの生活習慣病で認められる代謝障害の多くが、その制御遺伝子の転写調節障害に起因する。報告者らは、これまでに行った2型糖尿病の“転写病”としての側面に注目した研究から、糖尿病の高血糖の原因となる肝臓におけるエピジェネティクス制御系の異常が、ヒストンアセチル化酵素 GCN5、転写調節分子 CITED2、A キナーゼを含む代謝調節モジュールを介して起こること、本モジュールの機能抑制により高血糖が治療できることを見いだした。本研究では、肝臓においてこのモジュールにより制御される代謝調節性長鎖非コード RNA (lncRNA) を同定し機能を解明する。加えて、先行研究より同定した本モジュールにより発現制御を受ける酵素 X、タンパク Y の代謝調節における役割を解明する。これらの解析から本モジュールを介した代謝調節機構と病態への関与の全容を解明し、糖尿病創薬のための分子標的の同定をめざす。平成 29 年度の本研究の成果を、サブテーマごとに以下に報告する。

①酵素 X の代謝調節における役割の解明

ヘキソース F の除去下で飼育した全身性 X 欠損マウスは自由摂食時の体重、血糖値に差を認めないものの血中インスリンレベルは低下しており、インスリン感受性テスト、ブドウ糖負荷試験の結果、インスリン感受性・耐糖能がともに改善していた。これらは肝糖新生の著明な低下によるものであり、酵素 X が F の代謝とともに解糖・糖新生の双方向の触媒機能を有していることに合致する。

酵素 X の活性を欠損するヒトでは、F 摂取後に低血糖を来することが知られている。X 欠損マウスは絶食時・摂食時いずれにおいても、F 負荷により生命の維持に支障をきたす重篤な低血糖をきたした。F 負荷時の肝臓の糖取り込みを 2-deoxyglucose をトレーサーとして測定したところ、優位な取り込み低下が認められ、F により強力な糖新生の抑制が起こることが明らかとなった。メタボローム解析などによる本抑制の分子機構の解明に着手した。

②エピゲノム修飾酵素ドメイン含有タンパク Y の代謝調節における役割の解明

short hairpin(sh) RNA を用いたタンパク Y の肝臓特異的な欠損マウスの代謝表現型解析を実施した。本欠損マウスは血糖値の低下を呈し、その原因として糖新生系酵素遺伝子の発現抑制による糖新生の低下が明らかになった。この発現抑制の分子機構を培養肝細胞において検討したところ、Y が糖新生系酵素遺伝子転写に必須のコアクチベーター PGC-1 α を活性化すること、癌抑制遺伝子 p53 とその標的遺伝子である p21 の発現を抑制することを見いだした。PGC-1 α 、p53 は、長寿遺伝子として知られる Sirtuin 1 の脱アセチル化基質であることから、Y が Sirt1 の活性調節因子である可能性の検証に着手した。

③肝臓における代謝調節性 lncRNA の同定と機能解析

昨年度に得た代謝調節性 lncRNA 候補のうち、主にグルカゴン誘導性の lncRNA (G-lnc) の機能解析を行った。ゲノム編集技術を用いて作製した欠損マウスは対照と比べて、体重、血糖値、血中インスリン値等の代謝パラメーター、インスリン感受性・ピルビン酸を原料とする糖新生能に差を認めなかった。一方ブドウ糖負荷試験では負荷後 15 分の血糖値が高値を示し、インスリンの初期分泌の低下が示唆された。また、マウス培養肝細胞における機能欠損/獲得実験に着手した。G-lnc の欠損により複数の cAMP 依存的な絶食応答遺伝子の発現抑制を認め、肝細胞において本 RNA が絶食時の代謝制御因子であることが示唆された。本 RNA による遺伝子発現制御の分子機構の解析に着手した。

Subject No. : 28S1203

Title : Elucidation of the interplay between metabolism and epigenetics to identify drug targets for treatment of lifestyle-related diseases

Researchers : Michihiro Matsumoto

Key word : drug target, diabetes mellitus, metabolic syndrome, epigenetics, lncRNA

Abstract : Impaired metabolic gene transcription frequently causes metabolic derangement in obesity-related diseases such as type 2 diabetes. We have previously shown that the GCN5-CITED2-PKA signaling module (GCA module), assembled in the fasted/diabetic liver, integrates transcriptional coactivator activation and epigenetic changes on gluconeogenic gene promoters, and therefore activates the gluconeogenic program and causes hyperglycemia in diabetes. We recently identified two enzymes (X and Y) whose expressions are transcriptionally induced through the GCA module. In this study, we seek to elucidate the physiological and pathophysiological roles of the enzymes in the regulation of energy metabolism *in vitro* and *in vivo*. Additionally, we explore long non-coding RNAs (lncRNAs) that transcriptionally regulate hepatic metabolism through GCA module-mediated gene transcription. We reveal that epigenetic regulation of energy metabolism is mediated by the GCA module, and finally identify novel drug targets for treating lifestyle-related diseases. The progress of this research in 2017 is as follows:

1. Elucidation of the role of enzyme X in the regulation of hepatic metabolism

Mice lacking X systemically exhibited improved insulin sensitivity and glucose tolerance due to suppression of gluconeogenesis. This is not associated with reduced expression of gluconeogenic genes, but with the impairment of X-mediated gluconeogenic flux. The knockouts also exhibited severe hypoglycemia after the ingestion of some sort of hexose. This was associated with acutely blunted hepatic gluconeogenesis, not enhanced hepatic glucose uptake. The molecular mechanism of hexose-dependent impairment of gluconeogenesis is under investigation using metabolomics approaches.

2. Elucidation of the role of epigenome-modifying enzyme Y in the regulation of liver metabolism

Short hairpin RNA-mediated depletion of hepatic Y in mice inhibited gluconeogenic gene expression and gluconeogenesis, leading to decreased blood glucose levels. Mechanistic analysis in primary cultured hepatocytes revealed that Y activates gluconeogenic transcriptional coactivator PGC-1 α and suppressed cancer suppressor gene product p53. Giving that they are known to be regulated by acetylation, we currently test whether Y affects acetylation of these transcriptional regulators.

3. Identification and characterization of lncRNAs that regulate hepatic metabolism

From among 12 candidate lncRNAs, we selected one (hereafter G-lnc) whose expression is induced by glucagon-cAMP-PKA pathway through the GCA module in fasted/diabetic liver. Mice lacking G-lnc systemically were generated and analyzed in this year. Compared to control mice, the knockouts showed higher blood glucose levels 15 min after glucose administration, suggesting impaired first-phase insulin secretion. In G-lnc deleted hepatocytes, cAMP-dependent induction of fasting metabolic response genes was attenuated. G-lnc may be a regulator of insulin secretion and hepatic fasting metabolic response.

Researchers には、分担研究者を記載する。

生活習慣病創薬のための分子標的同定に資する 新規代謝制御エピジェネティクスの解明

2型糖尿病や肥満症などの生活習慣病で認められる代謝障害の多くが、その制御遺伝子の転写調節障害に起因する。報告者らは、これまでに行った2型糖尿病の“転写病”としての側面に注目した研究から、糖尿病の高血糖の原因となる肝臓におけるエピジェネティクス制御系の異常が、ヒストンアセチル化酵素GCN5、転写調節分子CITED2、Aキナーゼを含む代謝調節モジュール(GCAモジュール)を介して起こること、本モジュールの機能抑制により高血糖が治療できることを見いだした。本研究では、肝臓においてこのモジュールにより制御される代謝調節性長鎖非コードRNA(lncRNA)を同定し機能を解明する。加えて、先行研究より同定した本モジュールにより発現制御を受ける酵素X、タンパクYの代謝調節における役割を解明する。これらの解析から本モジュールを介した代謝調節機構と病態への関与の全容を解明し、糖尿病創薬のための分子標的の同定をめざす。平成29年度の本研究についてサブテーマごとに報告する。

GCAモジュールにより制御される酵素の 肝代謝調節における役割の解明

昨年度に同定した、cAMP・GCAモジュールにより発現が誘導される酵素Xの機能解析を行った。全身性X欠損マウスは血中インスリンレベルが低下し、インスリン感受性・耐糖能の改善を認めた。これらは肝糖新生の著明な低下によるものであった。酵素Xが解糖系における双方向性の触媒機能をすることに合致する。酵素Xの活性を欠損するヒトでは、ヘキソースF摂取後に低血糖を来す。X欠損マウスもF負荷により重篤な低血糖をきたした。F負荷時の肝臓の糖取り込みを2-deoxyglucoseをトレーサーとして測定したところ、優位な取り込み低下が認められ、Fにより強力な糖新生の抑制が起こることが明らかとなった。メタボローム解析などによる本抑制の分子機構の解明に着手した。

エピゲノム修飾酵素ドメイン含有タンパク Yの代謝調節における役割の解明

Xと同様のプロセスにより得たYの機能解析を行った。肝臓特異的なY欠損マウスは、肝糖新生系酵素遺伝子の発現低下により肝糖新生が抑制され、血糖値の低下を呈した。この発現抑制の分子機構を培養肝細胞において検討したところ、Yが糖新生系酵素遺伝子転写に必須のコアクチベーターPGC-1 α を活性化すること、癌抑制遺伝子p53とその標的遺伝子であるp21の発現を抑制することを見いだした。PGC-1 α 、p53は、長寿遺伝子として知られるSirtuin 1の脱アセチル化基質であることから、YがSirt1の活性調節因子である可能性の検証に着手した。

肝臓における代謝調節性lncRNAの 同定と機能解析

グルカゴン誘導性のlncRNA (G-lnc)の機能解析を行った。ゲノム編集技術を用いて作製した欠損マウスはブドウ糖負荷試験では負荷後15分の血糖値が対照と比べて高値を示し、インスリンの初期分泌の低下が示唆された。肥満・糖尿病の病態における表現型解析に着手した。また、マウス培養肝細胞における機能欠損／獲得実験に着手した。G-lncの欠損により複数のcAMP依存的な絶食応答遺伝子の発現抑制を認め、肝細胞において本RNAが絶食時の代謝制御因子であることが示唆された。本RNAによる遺伝子発現制御の分子機構の解析に着手した。

<業績>

論文発表: Nat Commonなど 6報

招聘講演: 生命科学系学会合同年次大会(ConBio2017)、第4回肝臓と糖尿病・代謝研究会、第8回糖尿病トランスレーショナルリサーチ研究会

学会発表等: 第54回 臨床分子医学会学術集会 1題、第60回日本糖尿病学会年次学術集会 2題、生命科学系学会合同年次大会(ConBio2017) 1題、第38回日本肥満学会 1題、第39回分子生物学会 1題、第28回分子糖尿病学シンポジウム 1題、第32回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会 1題、生理学研究所研究会 1題、International Symposium on Insulin Receptor and Insulin Action 2017 1題

研究発表及び特許取得報告について

課題番号：28指1203

研究課題名：生活習慣病創薬のための分子標的同一に資する新規代謝制御エピジェネティクスの解明

主任研究者名：松本 道宏

論文発表

論文タイトル	著者	掲載誌	掲載号	年
Sirt2 facilitates hepatic glucose uptake by deacetylating glucokinase regulatory protein.	Watanabe H, Inaba Y, Kimura K, Matsumoto M, Kaneko S, Kasuga M, Inoue H.	Nat Commun	9(1):30	2018年
Circadian clock regulates hepatic polyploidy by modulating Mkp1-Erk1/2 signaling pathway.	Chao HW, Doi M, Fustin JM, Chen H, Murase K, Maeda Y, Hayashi H, Tanaka R, Sugawa M, Mizukuchi N, Yamaguchi Y, Yasunaga JI, Matsuoka M, Sakai M, Matsumoto M, Hamada S, Okamura H.	Nat Commun	8(1):2238	2017年
CD206+ M2-like macrophages regulate systemic glucose metabolism by inhibiting proliferation of adipocyte progenitors.	Nawaz A, Aminuddin A, Kado T, Takikawa A, Yamamoto S, Tsuneyama K, Igarashi Y, Ikutani M, Nishida Y, Nagai Y, Takatsu K, Imura J, Sasahara M, Okazaki Y, Ueki K, Okamura T, Tokuyama K, Ando A, Matsumoto M, Mori H, Nakagawa T, Kobayashi N, Saeki K, Usui I, Fujisaka S, Tobe K.	Nat Commun	8(1):286	2017年
GCN5-CITED2-PKAモジュールを介した血糖調節機構	松本道宏 酒井真志人	糖尿病学2017	p. 10-19	2017年

研究発表及び特許取得報告について

絶食時の糖新生とヒストンアセチル化制御	松本道宏 酒井真志人	肝胆臓	75(1): 17-23	2017年
ヒストンアセチル化と糖代謝制御	酒井真志人 松本道宏	The Lipid	28(3): 14-21	2017年

学会発表

タイトル	発表者	学会名	場所	年月
脂肪組織量制御における転写コレギュレーターCITED2の役割の解明	松本道宏	生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017)	神戸	2017年12月
新規転写調節モジュールを介した肝糖新生制御機構	松本道宏, 酒井真志人, 満島勝	第4回肝臓と糖尿病・代謝研究会	名古屋	2017年5月
絶食応答性キナーゼDYRK1Bによる肝代謝調節機構	満島勝, 松本道宏	生理学研究所研究会	岡崎	2017年9月
肝臓における血糖調節の分子機構の解明～糖尿病創薬標的の同定をめざして～	松本道宏	第8回糖尿病トランスレーショナルリサーチ研究会	弘前	2017年9月
絶食応答性長鎖ノンコーディングRNAの代謝調節における役割の解明	長沼孝雄, 高橋経太, 酒井真志人, 満島勝, 矢野宏行, 松川隼也, 春日雅人, 松本道宏	第32回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会	名古屋	2018年2月
Dyrk1Bによる肝糖新生制御機構の解析	満島勝, 酒井真志人, 飯田智, 長沼孝雄, 矢野宏行, 松川隼也, 高橋経太, 春日雅人, 松本道宏	第32回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会	名古屋	2018年2月
DYRK1Bによる肝糖新生制御機構の解明	満島勝, 酒井真志人, 松本雅記, 飯田智, 長沼孝雄, 矢野宏行, 松川隼也, 高橋経太, 春日雅人, 松本道宏	生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017)	神戸	2017年12月
メタボリックシンドローム関連キナーDyrk1Bによる肝糖新生制御機構の解明	松本道宏	第38回日本肥満学会	大阪	2017年10月
絶食応答性プロリン水酸化酵素による糖代謝・炎症制御機構	矢野宏行, 長沼孝雄, 酒井真志人, 飯田智, 満島勝, 高峰英, 八木孝, 南史朗, 春日雅人, 松本道宏	第60回日本糖尿病学会年次学術集会	名古屋	2017年5月

研究発表及び特許取得報告について

Dyrk1B による肝糖新生制御機構の解明	満島勝, 酒井真志人, 八木孝, 矢野宏行, 長沼孝雄, 飯田智, 春日雅人, 松本道宏	第60回日本糖尿病学会年次学術集会	名古屋	2017年5月
DYRK1Bによる肝糖新生制御機構の解析	満島勝, 酒井真志人, 松本雅記, 八木孝, 飯田智, 長沼孝雄, 矢野宏行, 高峰英, 春日雅人, 松本道宏	第54回日本臨床分子医学会学術集会	東京	2017年4月
DYRK1B promotes hepatic gluconeogenesis by modulating PGC-1 α and the histone acetyltransferase GCN5.	Mitsushima M, Sakai M, Matsumoto Ma, Yagi T, Yano H, Naganuma T, Iida S, Gao F, Inoue H, Kasuga M, Matsumoto M	International Symposium on Insulin Receptor and Insulin Action (IR2017)	Nice, France	2017年4月

その他発表(雑誌、テレビ、ラジオ等)

タイトル	発表者	発表先	場所	年月日
該当なし				

特許取得状況について ※出願申請中のものは()記載のこと。

発明名称	登録番号	特許権者(申請者) (共願は全記載)	登録日(申請日)	出願国
該当なし				

※該当がない項目の欄には「該当なし」と記載のこと。

※主任研究者が班全員分の内容を記載のこと。