

機関番号：13301
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20591054
 研究課題名（和文） インスリン抵抗性と血管合併症を形成する肝臓由来新規ホルモンの機能解析
 研究課題名（英文） Identification of a novel hepatokine that causes insulin resistance and diabetic vascular complications
 研究代表者
 篁 俊成 (TAKAMURA TOSHINARI)
 金沢大学・医学系・准教授
 研究者番号：00324111

研究成果の概要（和文）：

ヒト肝臓での発現がインスリン抵抗性および高血糖と関連する機能性ヘパトカインとしてセレノプロテイン P (selenoprotein P; SeP) を同定した。SeP は主に肝臓で産生される分子量約 50 キロダルトンの分泌タンパクで、必須微量元素であるセレンの輸送タンパク、およびグルタチオンの酸化を介した抗酸化タンパクとして機能する。in vitro および in vivo の検討から、SeP は、少なくとも一部に AMP キナーゼの活性抑制を介して全身のインスリン抵抗性を引き起こし、糖代謝を障害することがわかった。

研究成果の概要（英文）：

We identified a gene encoding selenoprotein P (SeP), the hepatic expression levels of which were positively correlated with insulin resistance and hyperglycemia in patients with type 2 diabetes. SeP caused insulin resistance, at least partly, by inactivating AMPK both in vitro and in vivo.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：エネルギー・糖質代謝異常

1. 研究開始当初の背景

近年、2型糖尿病・肥満症は、生体ストレス・炎症や過栄養、多臓器由来液性因子など多因子が体内において複雑なネットワークを形成して発症することが認識されてきた。なかでも肝臓は、糖・蛋白・脂質代謝の司令塔として、これらの多因子を感じとり、遺伝子発現をダイナミックに変化させることで生体の恒常性を維持している。

2. 研究の目的

本研究では、2型糖尿病および健常人の肝臓に発現する遺伝子の SAGE、DNA chip 解析から新規肝臓由来ホルモンとして、セレノプロテイン P(selenoprotein P; SeP)を同定し、その機能を解析した。

3. 研究の方法

2型糖尿病患者5名と健常人5名の肝臓における発現遺伝子を SAGE 法を用いて包括的に解析し、糖尿病患者で1.5倍以上発現亢進する分泌タンパクコード遺伝子63種、発現低下する遺伝子114種を同定した。DNA chip 法を用いてこれらの遺伝子群の肝発現レベルと患者の臨床背景を照合した結果、肝遺伝子発現量がグルコースクランプ法で評価したインスリン感受性指数 MCR と相関する遺伝子15種を同定した。

臨床試験開始にあたっては関連する倫理委員会の審査を受け、指針に従い臨床情報は匿名化し個人情報に十分配慮した。

4. 研究成果

1. 肝遺伝子発現がMCRと負に相関し、かつ糖負荷後120分血糖値と正に相関したセレノプロテインP (SeP)を精製した。
2. 2型糖尿病モデル動物KKAyマウス、OLETFラットでは、肝SeP遺伝子、血中SePタン

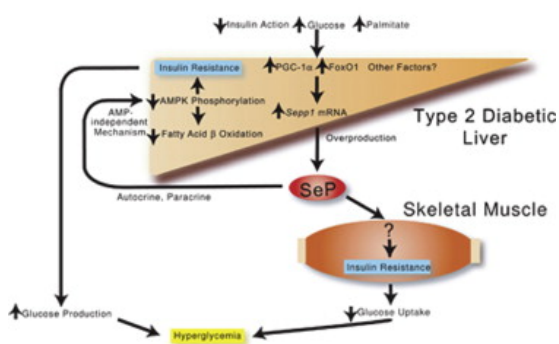
パクが上昇していた。

3. 2型糖尿病患者31名で血中SeP濃度を測定した結果、血糖値、HbA1c値と有意な正相関を認めた。
4. C57BLマウスに1mg/kgの精製SePを前投与すると、糖負荷30分後の血糖値は約1.8倍に上昇し ($p=0.001$)、腹腔内インスリン負荷後30分の血糖低下率は約10%減弱した。
5. このマウスの肝と筋でインスリン刺激性Aktリン酸化は減弱していた。
6. SePノックアウトマウスは体重、摂食量、酸素消費量は正常であったが、糖およびインスリン負荷試験では耐糖能、インスリン感受性は良好であった。
7. SePノックアウトマウスの肝と筋ではインスリン刺激によるインスリンレセプターのチロシンリン酸化が亢進していた。
8. H4IIEC肝細胞をSePタンパク $10\mu\text{g/mL}$ で12時間前処置すると、インスリン刺激によるinsulin receptor、IRS-2、Aktのリン酸化はそれぞれ約40%に減少し、培養液中への糖放出は約30%増加した。
9. SeP投与細胞ではAMPKのリン酸化とACCのリン酸化が減弱し、その下流で制御される脂肪酸酸化関連遺伝子群(PPAR- α 、Cpt-1、Acad1)の発現も減弱した。
10. 精製SePタンパクをC57BLマウスに静脈投与すると、肝臓におけるAMPKおよびACCのリン酸化は有意に低下した。
11. 恒常活性型AMPKをコードするアデノウイルスを感染させたH4細胞では、SeP投与によるインスリン抵抗性は消失した。
12. SeP投与細胞では、AMPKリン酸化を負に制御するプロテインフォスファターゼ2C(P2C)のタンパク発現が亢進していた。

以上、2型糖尿病患者肝臓の包括的発現遺伝子解析から同定した新規ヘパトカイン、セレ

ノプロテインPは、一部にAMPキナーゼ活性の抑制を介して、全身のインスリン抵抗性を増大する。このことは、過栄養状態で脂肪化した肝臓が、糖尿病の病態に成因として関与する可能性を示唆する。

今後は、SeP受容体の同定と機能解析、SeP遺伝子のプロモーター解析から発現制御機構の解明、SeP産生を制御する薬剤のスクリーニング、迅速血中濃度アッセイ系の確立と臨床的意義の解明等が課題となる。



5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 22 件)

- Misu H, Takamura T, et al.: A liver-derived secretory protein, selenoprotein p, causes insulin resistance. *Cell Metab* 12:483-495, 2010、査読有
- Hamaguchi E, Takamura T, et al.: Histological course of nonalcoholic fatty liver disease in Japanese patients: tight glycemic control, rather than weight reduction, ameliorates liver fibrosis. *Diabetes Care* 33:284-286, 2010、査読有
- Ootsuji H, Honda M, Kaneko S, Usui S, Okajima M, Okada H, Sakai Y, Takamura T, et al.: Altered hepatic gene expression profiles associated with myocardial ischemia. *Circ Cardiovasc Genet* 3:68-77, 2010、査読有
- Komura T, Sakai Y, Honda M, Takamura T, Matsushima K, Kaneko S: CD14+ monocytes are vulnerable and functionally impaired under endoplasmic reticulum stress in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 59:634-643, 2010、査読有
- Nakamura S, Takamura T, et al.: Palmitate induces insulin resistance in H4IIEC3 hepatocytes through reactive oxygen species produced by mitochondria. *J Biol Chem* 284:14809-14818, 2009、査読有
- Ando H, Takamura T, et al.: The hepatic circadian clock is preserved in a lipid-induced mouse model of non-alcoholic steatohepatitis. *Biochem Biophys Res Commun* 380:684-688, 2009、査読有
- Ando H, Ushijima K, Yanagihara H, Hayashi Y, Takamura T, et al.: Clock gene expression in the liver and adipose tissues of non-obese type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *Clin Exp Hypertens* 31:201-207, 2009、査読有
- Ando H, Takamura T, et al.: Clock gene expression in peripheral leucocytes of patients with type 2 diabetes. *Diabetologia* 52:329-335, 2009、査読有
- Uno M, Kurita S, Misu H, Ando H, Ota T, Matsuzawa-Nagata N, Kita Y, Nabemoto S, Akahori H, Zen Y, Nakanuma Y, Kaneko S, Takamura T: Tranilast, an antifibrogenic agent,

- ameliorates a dietary rat model of nonalcoholic steatohepatitis. **Hepatology** 48:109-118, 2008、査読有
10. Takeshita Y, Takamura T, et al.: Cross talk of tumor necrosis factor-alpha and the renin-angiotensin system in tumor necrosis factor-alpha-induced plasminogen activator inhibitor-1 production from hepatocytes. **Eur J Pharmacol** 579:426-432, 2008、査読有
 11. Takamura T, et al.: Obesity Upregulates Genes Involved in Oxidative Phosphorylation in Livers of Diabetic Patients. **Obesity** (Silver Spring), 2008、査読有
 12. Sakurai M, Takamura T, et al.: BMI may be better than waist circumference for defining metabolic syndrome in Japanese women. **Diabetes Care** 31:e12, 2008、査読有
 13. Matsuzawa-Nagata N, Takamura T, et al.: Increased oxidative stress precedes the onset of high-fat diet-induced insulin resistance and obesity. **Metabolism** 57:1071-1077, 2008、査読有
 14. Kurita S, Takamura T, et al.: Olmesartan ameliorates a dietary rat model of non-alcoholic steatohepatitis through its pleiotropic effects. **Eur J Pharmacol** 588:316-324, 2008、査読有
 15. Kazama Y, Takamura T, et al.: New insulin sensitivity index from the oral glucose tolerance test. **Diabetes Res Clin Pract** 79:24-30, 2008、査読有

[学会発表] (計 29 件)

1. 篁 俊成: スローエイジングを目指す 2

- 型糖尿病の全人的ケア. 第 52 回北陸支部生涯教育講演会, 金沢大学附属病院宝ホール、金沢市、石川、2011 年 3 月 13 日
2. 篁 俊成: 過栄養状態の肝臓が形成する 2 型糖尿病の病態. 第 45 回糖尿病学の進歩, 福岡、2011 年 2 月 18 日
 3. Misu H, Ishikura K, Takayama H, Hayashi H, Ota T, Kaneko S, Takamura T: **Keystone Symposia - Obesity**, Keystone Resort, Keystone, Colorado, USA, 2011 年 1 月 16 日
 4. Takamura T, et al.: Proteasome dysfunction in obesity contributes to ER stress, enhanced autophagy and insulin resistance in type 2 diabetic liver. **Keystone Symposia - Type 2 Diabetes, Insulin Resistance and Metabolic Dysfunction**, Keystone Resort, Keystone, Colorado, USA, 2011 年 1 月 15 日
 5. Takamura T, Kaneko S: Nutrition and fitness for prevention / treatment of NAFLD / NASH. **The 9th Single Topic Conference NASH 2010**, グランドプリンスホテル高輪、品川、東京、2010 年 11 月 19 日
 6. 篁 俊成: スローエイジング糖尿病ケアにおけるインスリン療法のあり方. 第 25 回日本糖尿病合併症学会総会 ランチョンセミナー, びわ湖ホール、大津市、滋賀、2010 年 10 月 23 日
 7. Ota T, Kitade H, Sawamoto K, Inoue H, Takamura T, et al.: CCR5 Promotes Adipose Tissue Inflammation and Whole-Body Insulin Resistance. **8th International Diabetes Federation Western Pacific Region Congress**, 一

- 般演題（ポスター），BEXCO, Busan, Korea, 2010年10月19日
8. 篁 俊成：アンチエイジングを見据えた2型糖尿病の総合的治療戦略. **Bio Japan 2010 講演**、パシフィコ横浜、横浜市、神奈川、2010年9月30日
 9. Otoda T, Misu H, Kurita S, Yamamoto M, Ota T, Shima K, Iseki S, Murata S, Tanaka K, Kaneko S, Takamura T. Proteasome dysfunction contributes to endoplasmic reticulum stress and insulin resistance in type 2 diabetic liver. **第46回欧州糖尿病学会議 (EASD)**, , 一般演題（ポスター）, “Mässan” conference and exhibition centre, Stockholm, Sweden, 2010年9月23日
 10. Takamura T : Molecular pathology underlying insulin resistance in type 2 diabetic liver. **Symposium at Kangwon National University “Integrative approaches in the battle against diabetes”** 招待講演, Kangwon National University, Chuncheon, Korea, 2010年9月9日
 11. 篁 俊成, 御簾博文, 金子周一 : Molecular pathology underlying insulin resistance in type 2 diabetic liver. **第53回日本糖尿病学会年次学術集会 シンポジウム**, ホテルグランヴィア岡山、岡山市、岡山, 2010年5月29日
 12. 篁 俊成：糖尿病臨床医として脂肪肝をどう捉えるか？ **第44回糖尿病学の進歩 教育講演**. 大阪国際会議場、大阪市、大阪、2010年3月6日
 13. Takamura T, et al.: Clinical and molecular pathology of type 2 diabetic liver. **The 15th Korea-Japan Symposium on Diabetes Mellitus**, シンポジウム, International Convention Center, Jeju, Jeju island, Korea, 2009年11月20日
 14. 篁 俊成, 御簾博文, 金子周一 : 2型糖尿病患者の病態と酸化的リン酸化遺伝子群の協調的発現異常. **第52回日本糖尿病学会年次学術集会 シンポジウム**. 大阪国際会議場・リーガロイヤルホテル大阪、大阪市、大阪、2009年5月22日
 15. 篁 俊成 : 糖尿病学と肝臓病学の接点としての非アルコール性脂肪性肝疾患. **第52回日本糖尿病学会年次学術集会 教育講演**. 大阪国際会議場・リーガロイヤルホテル大阪、大阪市、大阪、2009年5月24日
 16. Takamura T, et al.: Identification of a redox-associated hepatokine that contributes to systemic insulin resistance. **Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology 2009 - Type 2 diabetes and insulin resistance** 一般演題（ポスター）. Fairmont Banff Springs, Banff, Alberta, Canada, 2009年1月23日
 17. Takamura T, et al. : Role of mitochondria-derived reactive oxygen species in fat-induced insulin resistance in liver. **44th Annual meeting of European Association for the Study of Diabetes (EASD)** 一般演題（ポスター）. Nuova Fiera di Roma conference and exhibition centre, Rome, Italy, 2008年9月8日
 18. Toshinari Takamura: Molecular mechanisms underlying fat-induced insulin resistance in the liver **The**

17th Korean Diabetes Association
Summer Workshop & 2008
Symposium 招待講演. Grand Hilton
Seoul Hotel, Seoul, Korea,. 2008年8月
23日

〔図書〕(計7件)

1. 篁 俊成 糖尿病・肥満患者における
遺伝子発現変化 寺内康夫、伊藤
裕、石橋 俊 (編) Annual Review
2011 糖尿病・代謝・内分泌 中外医
学社東京 2011 pp113-120
2. 篁 俊成, 金子周一 代謝臓器として
の肝臓の分子生物学 林紀夫, 日比紀
文, 上西紀夫, 下瀬川徹 Annual
Review 2009 消化器 中外医学社 東
京 2009 pp148-156
3. 御簾博文, 篁 俊成 活性酸素がイン
スリンシグナル伝達に与える影響とそ
の二面性 谷口直之, 赤池孝章, 鈴
木敬一郎, 内田浩二 (編) 病態解
明に迫る活性酸素シグナルと酸化スト
レス—癌、神経変性疾患、循環・代謝異
常にかかわるレドックス制御機構と最
新の技術開発— 羊土社 東京
2009 pp212-217
4. 篁 俊成 . 糖質代謝異常 新時代
の糖尿病学 -病因・診断・治療研究の進
歩- 日本臨床大阪 2008 pp33-37

〔産業財産権〕

○出願状況 (計2件)

名称：糖尿病関連肝臓由来分泌タンパク質の
2型糖尿病または血管障害の診断または治
療への利用
発明者：篁 俊成、金子周一、御簾博文、高
倉伸幸
権利者：国立大学法人金沢大学

種類：特願

番号：2008-526853

出願年月日：2008/12/15

国内外の別：国内

名称：新規な肝疾患の予防または治療ならび
にインスリン抵抗性改善剤

発明者：篁 俊成、金子周一、安藤仁、太田
嗣人、御簾博文、栗田征一郎、宇野将文

権利者：国立大学法人金沢大学

種類：特願

番号：2008-274758

出願年月日：2008/10/24

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

研究室 Web site

[http://teamichiken.w3.kanazawa-u.ac.jp/
index.html](http://teamichiken.w3.kanazawa-u.ac.jp/index.html)

研究室 Facebook Fan Page

<https://www.facebook.com/TakamuraLab>

NPO 法人 Team DiET (チームダイエット)

<http://www.teamdiet.jp/>

Team DiET Facebook Fan Page

[http://www.facebook.com/pages/Team-DiET
/157807097607098](http://www.facebook.com/pages/Team-DiET/157807097607098)

金沢大学医学部附属病院 (旧第一内科) 恒常
性制御学講座

<http://www.m-kanazawa.jp/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

篁 俊成 (TAKAMURA TOSHINARI)

金沢大学・医学系・准教授

研究者番号：00324111