

## 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 6 月 7 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591129

研究課題名（和文）環境応答遺伝子としての TFAP2B のメタボリックシンドローム発症における役割

研究課題名（英文） Role of TFAP2B as environment response gene on Metabolic Syndrome

研究代表者

前川 聡 (MAEGAWA HIROSHI)

滋賀医科大学・医学部・教授

研究者番号：00209363

研究成果の概要（和文）：

その遺伝子座が糖尿病と関連する転写因子 TFAP2B (AP2 $\beta$ ) は、摂食により活性化した Protein Kinase C (PKC) $\mu$  によりリン酸化され、転写活性が増強されること、また、インスリン情報伝達に重要な IRS-1 の遺伝子発現をプロモーターレベルで負に制御していること見出した。TFAP2B は環境要因によりその活性が調節され、アディポカイン発現やインスリン作用を制御していることが判明した。

研究成果の概要（英文）：

TFAP2B (AP-2 $\beta$ ) is a candidate gene for conferring susceptibility to obesity and type 2 diabetes. We also found that protein kinase C (PKC)  $\mu$  was highly phosphorylated in the re-feeding condition. Furthermore, overexpression of PKC $\mu$  enhanced the effects of AP-2 $\beta$  on the expression of these adipocytokines. We also found that overexpression of AP-2 $\beta$  in 3T3-L1 adiposities impaired the promoter activity of IRS-1, and subsequently decreased mRNA and protein expression. These findings suggested that postprandial activation of PKC $\mu$  plays roles in disordered postprandial adipocytokine expression and impaired insulin signaling through AP-2 $\beta$ .

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
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：メタボリックシンドローム 肥満 脂肪組織 転写因子

## 1. 研究開始当初の背景

転写因子 TFAP2B は、Whole Genome Single Nucleotide Polymorphism の Association study により肥満 2 型糖尿病とその遺伝子座が関連することが認められた糖尿病関連遺伝子である。我々は、その発現調節に TFAP2B 遺伝子内のイントロン 1 の特定領域がエンハンサーとして関与すること、また、ヒト生検内臓脂肪組織および皮下脂肪組織を用いた解析により、脂肪組織内の TFAP2B の発現量とアディポカイン(IL-6, Adiponectin, Leptin)の発現量には、*in vitro* の検討と同様に、IL-6 とは正の相関を、Adiponectin と Leptin とは負の相関を示すことを見出し、TFAP2B の脂肪組織内発現量のアディポカイン発現調節における重要性が示唆された。しかしながら、ヒトにおいては、TFAP2B の発現量は肥満度などには関連を認めず、モデル動物を用いた検討でも同様にその発現量に変化は認められなかった。これらの成績は、TFAP2B 発現量は遺伝的に強く規定されていることを示すものと考えられるが、何らかの転写活性の活性化機構の存在が想定される。そこで、TFAP2B の活性調節には発現量のみならず、活性化機構が存在することを想定し、TFAP2B の活性化機構について検討することを目的とした。

我々は TFAP2B (マウスでは AP2 $\beta$ ) の過剰発現により糖の取り込みが亢進し、中性脂肪蓄積による脂肪細胞の肥大化が起こることを見出した。その機序は、アダプター蛋白である Grb2-associated binder 1(Gab-1) のチロシンリン酸化、PLC $\gamma$ の活性とそれに引き続く atypical PKC 活性化であることを明らかにした。さらに、AP2 $\beta$ 過剰発現による肥大化脂肪細胞では、インスリンによるインスリン受容体のチロシンリン酸化が低下すること、IRS-1

蛋白発現およびリン酸化が減少することを見出した。これらの成績から、AP2 $\beta$ によるインスリン抵抗性惹起機序は単一ではなく種々の分子が関与していると考えられる。特に、IRS-1 蛋白発現量の調節については、セリン残基のリン酸化とそれに引き続くユビキチン化による蛋白分解亢進による機構が知られているが、IRS-1 の遺伝子発現制御については研究が少ないため、その発現調節機構を検討することを目的とした。

最後に、AP2 $\beta$ 遺伝子のホモ欠損マウスは、多胞性腎のう胞による腎不全により生後まもなく致死であることが報告されている。そこで、連携研究者である理化学研究所の前田士郎博士が遺伝子欠損ヘテロマウスを作製したため、その特徴について検討することを目的とした。

## 2. 研究の目的

- (1) TFAP2B の活性化機構についての検討
- (2) TFAP2B による IRS-1 mRNA 発現制御の検討
- (3) 遺伝子改変ヘテロマウスにおける検討

## 3. 研究の方法

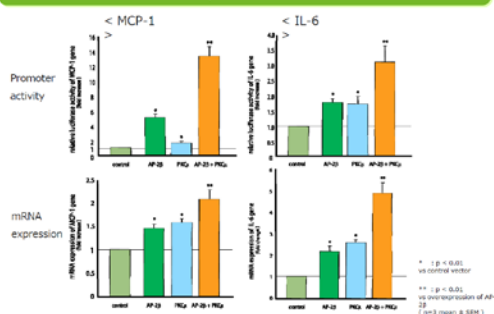
- (1) 摂食後に活性化される Protein Kinase C (PKC)  $\mu$  の過剰発現、発現抑制による AP2 $\beta$  の活性化について検討した。
- (2) 熊本大学荒木栄一教授より供与された IRS-1 遺伝子 promoter をコードする Luciferase vector を作成し、AP2 $\beta$ による抑制の詳細な分子機構を検討した。
- (3) 理化学研究所の前田士郎博士が作製したヘテロ欠損マウスを用いてその特徴を解析する。

## 4. 研究成果

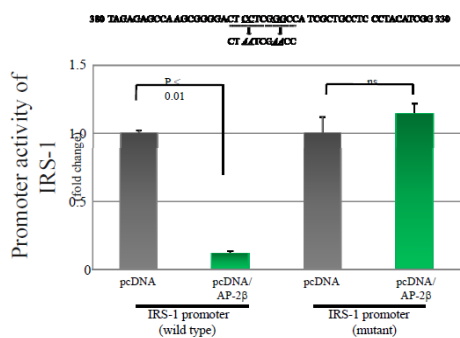
- (1) 摂食後に活性化される Protein Kinase C (PKC)  $\mu$  により AP2 $\beta$ が活性化(リン酸化)さ

れ、アディポカイン発現(MCP-1, IL-6, Adiponectin)が制御されていることが判明した。すなわち、3T3L1脂肪細胞においてAP2β過剰発現によるMCP-1およびIL-6発現亢進作用およびAdiponectin発現抑制作用はPKCμによりさらに増強した。このように、転写因子TFAP2Bは遺伝的に発現量が規定され、環境要因によりその活性が調節され、アディポカイン発現を制御していることが判明した。

AP-2βによるアディポサイトカイン発現調節に対するPKCμの追加効果



(2) AP2βによるIRS-1遺伝子発現抑制の分子機構を検討し、AP2βが直接IRS-1遺伝子promote活性を制御していることを発見した。



(3) AP2β遺伝子のホモ欠損マウスは、多胞性腎のう胞による腎不全により生後まもなく致死であることが報告されている。そこで、連携研究者である理化学研究所の前田士郎博士が同様な遺伝子欠損ヘテロマウスを作成した。そこで、ヘテロ欠損マウスの遺伝子

型、各組織におけるAP2β遺伝子発現、さらに、脂肪組織における発現とアディポサイトカイン発現について検討した。しかしながら、遺伝子型で判定したヘテロ欠損マウスにおいても、脂肪組織におけるAP2β遺伝子発現の低下を認めず、何らかの機構でAP2β発現低下を代償していることが示唆された。現在、各臓器におけるAP2β発現を検討中である。

### 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6件)

1. Morino K, Petersen KF, Sono S, Choi CS, Varman T, Samuel VT, Lin A, Gallo A, Zhao H, Kashiwagi A, Ira J, Goldberg IR, Wang H, Robert H, Eckel RH, Maegawa H, and Shulman GI. Regulation of Mitochondrial Biogenesis by Lipoprotein Lipase in Muscle of Insulin Resistant Offspring of Parents with Type 2 Diabetes. Diabetes 61:877-87, 2012 (査読あり)
2. Yoshizaki T, Kusunoki C, Kondo M, Yasuda M, Kume S, Morino K, Sekine O, Ugi S, Uzu T, Nishio Y, Kashiwagi A, Maegawa H. Autophagy regulates inflammation in adipocytes. Biochem Biophys Res Commun 417:352-7, 2012 (査読あり)
3. Kondo M, Ugi S, Morino K, Fuke T, Obata T, Yoshizaki T, Nishio Y, Maeda S, Kashiwagi A, Maegawa H Postprandial activation of protein kinase Cμ regulates the expression of adipocytokines via the transcription factor AP-2β. Int J Mol Med 28:95-100, 2011 (査読あり)
4. Meng X, Kondo M, Morino K, Fuke T, Obata T, Yoshizaki T, Ugi S, Nishio Y, Maeda S, Araki E, Kashiwagi A,

- Maegawa H. Transcription factor AP-2 $\beta$ : a negative regulator of IRS-1 gene expression. Biochem Biophys Res Commun 392: 526-532, 2010 (査読あり)
5. Fuke T, Yoshizaki T, Kondo M, Morino K, Obata T, Ugi S, Nishio Y, Maeda S, Kashiwagi A, Maegawa H. Transcription factor AP-2 $\beta$  inhibits expression and secretion of leptin, an insulin-sensitizing hormone, in 3T3-L1 adipocytes. Int J of Obesity 34:670-678, 2010 (査読あり)
  6. Ugi S, Nishio Y, Yamamoto H, Ikeda K, Kobayashi M, Tsukada S, Kondo S, Morino K, Obata T, Yoshizaki T, Uzu T, Naitoh H, Tani T, Maeda S, Kashiwagi A, and Maegawa H Relation of the expression of transcriptional factor TFAP2B to that of adipokines in subcutaneous and omental adipose tissues Obesity 18, 1277-82, 2010 (査読あり)

[学会発表] (計 3 件)

1. Kondo M, Ugi S, Morino K, Fuke T, Obata T, Yoshizaki T, Nishio Y, Maeda S, Kashiwagi A, Maegawa H. Postprandial Activation of Protein Kinase C $\mu$  Regulates the Expression of Adipocytokines Via Transcription Factor AP-2 $\beta$  The Annual meeting of 71st American Diabetes Association 2011 年 6 月 San Diego, USA
2. Kondo M, Meng X, Morino K, Yoshizaki K, Fuke T, Obata T, Ugi S, Nishio Y, Maeda S, Kashiwagi A, and Maegawa H. The transcription factor AP-2 $\beta$  is a unique regulator of IRS-1 and a candidate gene for insulin resistance. The Annual meeting of 70th American diabetes association 2010 年 6 月 Ohland, Tanpa, USA

3. Kondo M, Maegawa H., Morino K, Yoshizaki T, Fuke T, Obata T, Ugi S, Nishio Y, Maeda S, Kashiwagi A. New Role of Protein Kinase C $\mu$  on Adipocytokine Expression in Re-Feeding Condition Via Transcription Factor AP-2 $\beta$ , a Regulator of Adipocytokine Expression. The Annual meeting of 69th American diabetes association 2009 年 6 月 NewOlens USA

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

前川 聡 (MAEGAWA HIROSHI)  
滋賀医科大学・医学部・教授  
研究者番号：00209363

##### (2) 研究分担者 なし

##### (3) 連携研究者

前田 士郎 (MAEDA SHIRO)  
理化学研究所・遺伝子多型研究センター  
チームリーダー  
研究者番号：50314159