

学位論文抄録

クラス I ヒストン脱アセチル化酵素の肝糖新生に果たす役割の解析
(The role of class I histone deacetylase (HDAC) on hepatic gluconeogenesis)

大 磯 洋

熊本大学大学院医学教育部博士課程臨床医科学専攻代謝内科学

指導教員

荒木 栄一 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻代謝内科学

学位論文抄録

【目的】主にヒストン蛋白のアセチル化を制御する分子であるヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)は、遺伝子の発現制御のほか、様々な分子の修飾や分解の調節など多様な機能を持ち、癌や寿命との関連に注目が集まっている。HDAC と糖代謝との関連については、クラス III HDAC アイソフォームのひとつである Sirtuin1 (Sirt1)が糖代謝に関連しているとの報告があるが、他のアイソフォームと糖代謝との関連の報告は少ない。本研究ではクラス I HDAC に特異的である新規 HDAC 阻害薬 Ky-2 を合成し、これを用いて HDAC と糖代謝制御に携わる分子との関連を解析し、HDAC 制御による糖代謝への効果について検討した。

【方法】(1) Ky-2 を投与した高脂肪食負荷 (HFD) マウスで、空腹時と随時の血糖値及びインスリン値を測定し、各種負荷試験を施行した。(2) Ky-2 や他の HDAC 阻害薬であるトリコスタチン A (TSA) にて前処置した肝由来細胞 HepG2 を用いて、糖新生の律速酵素である phosphoenol pyruvate carboxykinase (PEPCK) やその転写因子 hepatocyte nuclear factor 4 α (HNF4 α) の発現、インスリン刺激に伴う Akt や FoxO1 のリン酸化状態などを、定量的 PCR 法や Western blot 法にて解析した。(3) 肝臓での糖代謝に関連する HDAC のアイソフォームを同定するため、siRNA 法により HDAC1、2、3 の発現を抑制した HepG2 を用いて解析した。(4) HFD マウスに Ky-2 を投与し、肝臓における糖新生関連分子の発現量やリン酸化状態を定量的 PCR 法や Western blot 法にて解析した。

【結果】(1) Ky-2 投与 HFD マウスで、血中インスリン値に有意差はないものの空腹時血糖が有意に低下した。ブドウ糖負荷試験では有意差を認めなかったが、インスリン負荷試験とピルビン酸負荷試験では Ky-2 投与群で負荷後の血糖値が有意に低値であった。(2) Ky-2 で処理した HepG2 において①PEPCK の発現が有意に抑制された。②HNF4 α の発現量も減少した。③Akt 及び FoxO1 のインスリン刺激に伴うリン酸化が有意に増強した。TSA で処理した HepG2 において HNF4 α の発現が抑制された。(3) siRNA 法による HDAC1 のノックダウンで PEPCK や HNF4 α の発現抑制を認めた。(4) Ky-2 を投与した HFD マウスの肝臓において、①PEPCK の発現抑制、②HNF4 α の発現抑制、③インスリンによる Akt と FoxO1 のリン酸化増強を認めた。

【結論】クラス I HDAC の阻害により糖新生の律速酵素である PEPCK の発現が抑制されることを *in vitro* 及び *in vivo* の両者において確認した。その機序として①HNF4 α の発現抑制と②インスリンシグナルによる Akt、FoxO1 のリン酸化亢進の 2 つが示され、これらにより PEPCK 遺伝子の発現が抑制されると考えられた。またクラス I HDAC のうち主に HDAC1 がその機序に関与していると考えられた。