

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		胆汁酸受容体 FXR の TGFβ3 を介した膵島保護作用			
研究テーマ (欧文) AZ		TGFβ3 mediated pancreatic islet protective effect of the bile acid receptor FXR			
研究氏 代表 名 者	カナ CC	姓)タナカ	名)トシヤ	研究期間 B	2009 ~ 2011 年
	漢字 CB	田中	十志也	報告年度 YR	2011 年
	ローマ字 CZ	Tanaka	Toshiya	研究機関名	東京大学
研究代表者 CD 所属機関・職名	田中 十志也 東京大学先端科学技術研究センター・特任准教授				
<p>概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)</p> <p>胆汁酸をメディエーターとした肝臓と膵臓とのクロストーク、および胆汁酸による Farnesoid X receptor (FXR) の活性化を介した膵島保護作用を明らかにすることを目的とし、膵β細胞特異的 FXR ノックアウトマウスを用いた機能解析、ならびに FXR アゴニストによって膵島において最も誘導される TGFβ3 の誘導機構およびその作用について検討した。FXR FLOX マウスを米国 NIH より入手し、C57BL/6N マウスとの戻し交配を実施した(現在も継続中)。FXR 合成リガンドによって最も誘導された TGFβ3 に着目し、遺伝子 5' 上流について解析を行ったところ、約 2 kb 上流に FXR-RXR ヘテロ二量体が結合する inverted repeat 1 (IR1) が存在していた。そこで、この領域を含むレポーター遺伝子を作製し、マウスおよびラットインスリノーマ MIN6 および INS1E 細胞を用いて FXR リガンドによる影響を検討したが、有意なレポーター遺伝子の活性化は認められなかった。また、これらの細胞では FXR が発現しているにも関わらずリガンドによる膵島で同定された標的遺伝子群の発現変動が認められなかった。したがって、これらの培養細胞系では FXR の修飾等の活性化が起こらない、あるいは膵島特異的な共役因子が細胞系では欠如している可能性が考えられた。このことを踏まえ、FXR の翻訳後修飾ならびに相互作用タンパクを同定するためにショットガンプロテオミクスによる内在性相互作用タンパクの同定方法を検討し、内在性の FXR および RXRα のヘテロ二量体およびいくつかの相互作用候補タンパクを同定した。</p>					
キーワード FA	胆汁酸	FXR	膵島	TGFβ3	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

To clarify the bile acid mediated cross talk between liver and pancreatic islets, and the pancreatic islet protective effect by the farnesoid X receptor (FXR) activation, here we have decided to generate pancreatic β -cell specific FXR knockout mice and analyze metabolic consequence after the several stimuli. In addition, the mechanism of transforming growth factor β 3 (TGF β 3) which is highest induced gene induction by FXR agonist has also studied. FXR-floxed mice were kindly gifted by Prof. Frank J. Gonzalez from NIH, and were back-crossed to C57BL/6N mice for six generations (still ongoing). Next we carried out a survey of putative binding sites for FXR over a 5-kb region upstream from the first exon of TGF β 3 gene. We found inverted repeat 1 (IR1) sequence which is putative FXR-RXR heterodimer binding sites is located at 2kb upstream of transcriptional start site. To investigate whether FXR-RXR heterodimer binds and transcriptionally activates the TGF β 3 promoters, we generated luciferase reporter constructs of the IR1 containing promoter by inserting this DNA into the promoterless luciferase reporter gene pGL3-basic. Promoter-reporter constructs and FXR and RXR α expression vectors were transiently transfected into rat or mouse insulinoma INS1E or MIN6 cells, and were treated with synthetic FXR ligand GW4064. Unexpectedly, significant induction of reporter activities was observed by neither FXR-RXR α transfection nor GW4064 treatments. Although FXR protein was significantly expressed in these cell lines, agonist unable to induce the target genes which are induced in the pancreatic islets suggesting defect of post-translational modification or absence of pancreatic islets specific cofactors in these cell lines. To resolve this possibility, we performed shot gun proteomics approach to identify post-translational modification and associated protein of FXR in pancreatic islet. We established the condition of proteomics method and identified the endogenous FXR and RXR α heterodimer and their associated protein candidates.