

日中笹川医学奨学金制度(学位取得コース)評価書

課程博士：指導教官用



第 41 期


研究者番号： G4106

作成日： 2021 年 3 月 日

氏名	劉 雨桐	LIU YUTONG	性別	F	生年月日	1994. 10. 25
所属機関(役職)	西安交通大学外国语学院(学生)					
研究先(指導教官)	杏林大学大学院国際協力研究科(宮首 弘子教授)					
研究テーマ	日本人医療通訳者と外国人医療通訳者の特性比較研究 Comparative study of characteristics between Japanese medical interpreters and foreign medical interpreters					
専攻種別	<input type="checkbox"/> 論文博士			<input checked="" type="checkbox"/> 課程博士		

研究者評価(指導教官記入欄)

成績状況	<input checked="" type="radio"/> 優 <input type="radio"/> 良 <input type="radio"/> 可 <input type="radio"/> 不可 学業成績係数=	取得単位数
学生本人が行った 研究の概要	<p>この一年間の研究活動は、博士論文の研究と付随する研究論文の発表である。研究論文の発表は、次の3点である。</p> <p>① 医療通訳の質に影響する日中間医療事情の差異についての考察～中国人医療従事者の意識調査を通して～</p> <p>② 日中対訳に見る職場のポライトネス表現の対照研究</p> <p>③ 在那港湾旅館の内院里(翻訳出版)</p> <p>博士論文の研究については、構成を考案し、主に日本語ネイティブ医療通訳者と中国語ネイティブ医療通訳者に対するアンケート調査を行なっている。</p> <p>博士論文の問題意識は、「異なる文化背景を持ち、異なる母語を使っている中国語ネイティブ医療通訳者と日本語ネイティブ医療通訳者の通訳スタンスは同じなのか」である。その問題を明らかにするために、過去の「医療通訳技能検定試験」二次試験のロールプレイ・スクリプトをベースに、医療従事者と患者双方が話す内容を分析し、そこから、医療従事者の発言と患者の発言の特徴を抽出した。</p> <p>こうした特徴を踏まえて、検証すべき複数の仮説を設定し、医療通訳者に対して、「医療従事者との関わり」、「患者との関わり」、「医療通訳の立場と役割意識」、「医療通訳と関連する背景知識についての理解」、「通訳の質についての理解」についての意識調査を実施している。この調査は、前回の医療従事者の調査結果と対比するためのものである。</p> <p>調査はMicrosoft社のフォームを用いて、医療通訳NPO等を通じて拡散させ、現場で活躍している医療通訳者から回答を回収していて、現在継続中である。</p>	
総合評価	<p>【良かった点】</p> <p>当学生の研究に臨む姿勢は申し分なく、博士論文の研究のみならず、研究に付随する論文作成や各種研修への協力などを実践しており、実践的な問題意識と論理的なアプローチの両者においてバランスよく、研究に邁進できている。</p> <p>また博士論文に関しては、特に仮説の導出がすばらしく、中間発表の場においても聴衆の研究者たちからの賞賛を受けた。</p> <p>医療通訳の仕組みの中で通訳者が患者と同じネイティブか否かによる通訳効果を多角的に明確にする研究は前例が少なく、現時点において医療通訳について網羅的で意欲的な論文構成であり、研究成果が期待される。</p> <p>【改善すべき点】</p> <p>前回評価書で課題とした日中学会での発表や機関誌での論文の発表を複数実践しており、課題は克服されていると認められる。</p>	

	<p>【今後の展望】 今後は今までの調査で得た客観的なデータと主観的なデータを合わせて、さらに具体的な分析を行うことが予定されている。結論の価値はアンケートやインタビュー結果によるものであるので、徹底して客観性を貫いて研究成果を達成することを希望する。</p>
<p>学位取得見込</p>	<p>研究計画を着実・堅実に実施しており、本人の優れた実行力を裏付けている。前例のない意欲的な問題意識に対し、多くの課題を克服してきており、研究活動が順調に推移しているものと認められる。</p>
<p style="text-align: right;"> 評価者（指導教官名） 宮首弘子  </p>	

日中笹川医学奨学金制度(学位取得コース)報告書 研究者用



第41期

研究者番号: G4106

作成日: 2021年3月1日

氏名	Liu Yutong	劉雨桐	性別	F	生年月日	1994. 10. 25
所属機関(役職)	西安交通大学外国語学院(学生)					
研究先(指導教官)	杏林大学大学院 国際協力研究科(宮首 弘子教授)					
研究テーマ	日本語ネイティブ医療通訳者と中国語ネイティブ医療通訳者の特性比較研究 Characteristics comparison study of Japanese native medical interpreter and Chinese native medical interpreter					
専攻種別	論文博士	<input type="checkbox"/>	課程博士	<input checked="" type="checkbox"/>		
1. 研究概要(1)						
1) 目的(Goal)						
<p>近年グローバル化の流れによって、来日観光客は増加の一途をたどっている。また、国連人口部は、少子・高齢化による人口減少と将来的な労働力不足が問題になっている日本に対して、移民を受け入れる必要があると指摘している。実際近年では外国人労働者、日系人、国際結婚配偶者が急増し、その一部が日本社会に定着する傾向がある。こうした背景の下で、訪日・在日外国人患者も受診しやすい医療環境の整備もますます重要となり、その一環として、質の高い医療通訳の確保が急務とされている。</p> <p>現在、医療通訳者は医療従事者と同じく患者の生命と健康を守る医療チームの一員とみなされ、様々な角度から研究されているところであるが、その中で、日本語ネイティブか否かによって通訳者の特性を研究する角度はまだ少ないが、患者側と同じ文化を持つ外国人医療通訳者と医者側と同じ文化を持つ日本人医療通訳者の違いに注目する研究方向がある。田中郁子・柳澤理子は「外国人医療通訳者の体験した困難とその対処」で、医療隠語、略語など日本人ならば非医療従事者でも知っている言葉が分からない外国人医療通訳者は日本人医療通訳者と比べて、医療システムへの理解に欠けていると指摘している。</p> <p>このような先行研究の結論を踏まえて、異なる文化背景を持ち、異なる母語を使っている中国語ネイティブ医療通訳者と日本語ネイティブ医療通訳者の特性もそれぞれ異なるはずだと考えている。本論文の目的は、中国人ネイティブである筆者の強みを活かして、両言語の母語通訳者の「通訳に臨むスタンス」・「医療通訳としての倫理観」・「母語が医療通訳の質にもたらす影響」といった問題を明らかにすることである。</p>						
2) 戦略(Approach)						
<p>より客観的な研究結果を得るために、本研究は三つのステップの調査・分析を踏まえて結論に導く。</p> <p>現在の見通しを以下のように記述する。</p> <p>①医療通訳の利用側(医療従事者)の視点からアプローチし、医療通訳に対する考え方を捉え、日中医療システムや医療文化の違いを明確にする。</p> <p>②医療通訳者の視点からアプローチする。外国人医療通訳者と日本人医療通訳者の特性を調査し、通訳の質を評価してもらう。</p> <p>③上記①②の調査で得られたデータを基に比較分析を行い、客観的な視点と主観的な視点を合わせて各特性が通訳の質にどのような影響を与えるかを明らかにする。</p> <p>上記三つのステップを3年計画とし、1年目は計画通り、医療従事者を対象とするインタビュー調査を行なった。調査データをもとに仕上げた論文は学術誌に掲載された。2年目は主に博士論文の構成を考案し、日本語ネイティブ医療通訳者と中国語ネイティブ医療通訳者に対するアンケート調査を行なった。</p>						
3) 材料と方法(Materials and methods)						
<p>医療通訳の場で母語が違ふと何がかわるかという問題を明らかにするために、2016から2019年の「医療通訳技能検定試験過去問題集総集」二次試験のロールプレイ・スクリプトをベースに医療従事者と患者双方が話す内容を分析した。一般社団法人日本医療通訳協会が主催する医療通訳技能検定試験は国際臨床医学会に認められるので、医療現場の会話内容として参考するのは信憑性があると考えられる。</p> <p>内科、外科の場面を含めた12のスクリプトで出た医療専門用語の回数を統計した結果、医療従事者は延べ474回で、患者は延べ230回であった。それに、患者が不安の気持ちを吐露し、医療従事者が患者を慰める発言がよく見かけられる。通訳者は双方の発言を訳す際に必ず行う4つの段階、つまり「医療従事者の話を聞き取り」、「患者に訳出」、「患者の話を聞き取り」、「医療従事者に訳出」をステップ1、2、3、4と番号つけてみると、中国語ネイティブにとってステップ2、4は母語で、日本語ネイティブにとってステップ1、3は母語である。医療専門用語が多い、医療専門用語が少ない、母語、非母語を4つの変数として組み合わせると、理論上、一番簡単なのは「専門用語が少ない+母語」の組み合わせで、一番難しいのは「専門用語が多い+非母語」の組み合わせである。また、医療通訳で最も困難な部分「専門性が高い+非母語」から分析すると、外国人はステップ1、つまり医療従事者との間で起こる一方、日本人はステップ2、つまり患者との間で起こる。さらに、感情的な表現を分析すると、外国人は慰める発言を母語で患者に伝え、日本人は外国語で伝える。</p>						

1. 研究概要(2)

4) 実験結果 (Results)

以上の分析結果を踏まえて、「中国語ネイティブ医療通訳者と日本語ネイティブ医療通訳者の各通訳プロセスの難易度はそれぞれ異なる」、「中国語ネイティブ医療通訳者は日本語ネイティブ医療通訳者より医者とうまくコミュニケーションできない可能性が高い」、「中国語ネイティブ医療通訳者は日本語ネイティブ医療通訳者より、患者と信頼関係を構築するのが容易である」、「中国語ネイティブ医療通訳者は日本語ネイティブ医療通訳者より患者に寄り添う気持ちが強い」といった4つの仮説を提示した。

仮説を論証するために、中国語ネイティブ医療通訳者と日本語ネイティブ医療通訳者に対してアンケート調査を行なった。質問項目は主に「基本属性」、「医療従事者との関わり」、「患者との関わり」、「医療通訳の立場と役割意識」、「医療通訳と関連する背景知識についての理解」、「通訳の質についての考察」と分けられる。調査用紙はマイクロソフトのフォームを使って、医療通訳NPOなどを通じて現場で活躍している医療通訳者の間に拡散させ、今まで72の回答を回収した。

5) 考察 (Discussion)

現在、本研究は計画通り、医療通訳を利用する医療従事者の視点から医療通訳に存在する諸問題を考察し、医療通訳者にとって重要な背景知識、日中医療システムの相違点を明らかにした。それに、医療通訳現場の会話内容を踏まえて、異なる母語話者の医療通訳に対するオリジナルの仮説を提出し、それを検証するアンケート調査を行なった。これからは収集した客観的なデータに基づいて具体的な分析を行い、4つの仮説の是非を論証したいと考える。

6) 参考文献 (References)

- [1]水野真木子(2008)『コミュニティ通訳入門』大阪教育図書
- [2]寺下貴美(2011)「質的研究方法論 ～質的データを科学的に分析するために～」『日本放射線技術学会雑誌』第67巻第4号、pp413-417
- [3]伊藤美保・飯田奈美子・南谷かおり・中村安秀(2012)「外国人医療における医療通訳者の現状と課題—医療通訳者に対する質問紙調査より—」『国際保健医療』第27巻第4号、pp. 387-394
- [4]穴沢良子(2012)「医療通訳トレーニングの実践と評価:アクション・リサーチ実施計画」『通訳翻訳研究』No. 12、pp. 263-274
- [5]水野真木子(2013)「医療通訳者の異文化仲介者としての役割について」『金城学院大学論集』社会科学編 第10巻第1号、pp. 1-15
- [6]田中郁子・柳澤理子(2013)「外国人医療通訳者の体験した困難とその対処」『国際保健医療』第28巻第4号、pp. 305-31
- [7]有馬齊(2014)「医療現場における異文化コミュニケーションの問題」『医学哲学 医学倫理』32巻、pp71-75
- [8]灘光洋子・浅井亜紀子・小柳志津(2014)「質的研究方法について考える—グランデッド・セオリー・アプローチ、ナラティブ分析、アクションリサーチを中心として」『異文化コミュニケーション論集(12)』pp. 67-84
- [9]寺島理沙子・掘越由紀子・鶴田光子(2015)「日本における医療通訳の現場と課題—医療通訳者へのインタビューを通して—」『東海大学健康科学紀要』第21号、pp. 75-87
- [10]大野直子(2016)「医療の場における異文化理解」『順天堂グローバル教養論集』第一巻、pp. 70-79

2. 執筆論文 Publication of thesis ※記載した論文を添付してください。Attach all of the papers listed below.

論文名 1 Title	医療通訳の質に影響する日中間医療事情の差異についての考察 ～中国人医療従事者の意識調査を通して～				
掲載誌名 Published journal	杏林大学大学院国際協力研究科『大学院論文集』				
	2021 年 3 月	18 巻(号)	17 頁 ~ 30 頁	言語 Language	日本語
第1著者名 First author	劉雨桐	第2著者名 Second author		第3著者名 Third author	
その他著者名 Other authors					
論文名 2 Title	日中对訳に見る職場のポライトネス表現の対照研究				
掲載誌名 Published journal	日中翻訳文化教育研究				
	2021 年 3 月	6 巻(号)	93 頁 ~ 103 頁	言語 Language	日本語
第1著者名 First author	劉雨桐	第2著者名 Second author		第3著者名 Third author	
その他著者名 Other authors					
論文名 3 Title	在那港湾旅館的内院里				
掲載誌名 Published journal	浙江文艺出版社				
	2020 年 9 月	巻(号)	頁 ~ 頁	言語 Language	中国語
第1著者名 First author	劉雨桐	第2著者名 Second author		第3著者名 Third author	
その他著者名 Other authors					
論文名 4 Title					
掲載誌名 Published journal					
	年 月	巻(号)	頁 ~ 頁	言語 Language	
第1著者名 First author		第2著者名 Second author		第3著者名 Third author	
その他著者名 Other authors					
論文名 5 Title					
掲載誌名 Published journal					
	年 月	巻(号)	頁 ~ 頁	言語 Language	
第1著者名 First author		第2著者名 Second author		第3著者名 Third author	
その他著者名 Other authors					

3. 学会発表 Conference presentation ※筆頭演者として総会・国際学会を含む主な学会で発表したものを記載してくだ

※Describe your presentation as the principal presenter in major academic meetings including general meetings or international me

学会名 Conference	なし				
演題 Topic					
開催日 date	年	月	日	開催地 venue	
形式 method	<input type="checkbox"/> 口頭発表 Oral	<input type="checkbox"/> ポスター発表 Poster	言語 Language	<input type="checkbox"/> 日本語	<input type="checkbox"/> 英語 <input type="checkbox"/> 中国語
共同演者名 Co-presenter					
学会名 Conference					
演題 Topic					
開催日 date	年	月	日	開催地 venue	
形式 method	<input type="checkbox"/> 口頭発表 Oral	<input type="checkbox"/> ポスター発表 Poster	言語 Language	<input type="checkbox"/> 日本語	<input type="checkbox"/> 英語 <input type="checkbox"/> 中国語
共同演者名 Co-presenter					
学会名 Conference					
演題 Topic					
開催日 date	年	月	日	開催地 venue	
形式 method	<input type="checkbox"/> 口頭発表 Oral	<input type="checkbox"/> ポスター発表 Poster	言語 Language	<input type="checkbox"/> 日本語	<input type="checkbox"/> 英語 <input type="checkbox"/> 中国語
共同演者名 Co-presenter					
学会名 Conference					
演題 Topic					
開催日 date	年	月	日	開催地 venue	
形式 method	<input type="checkbox"/> 口頭発表 Oral	<input type="checkbox"/> ポスター発表 Poster	言語 Language	<input type="checkbox"/> 日本語	<input type="checkbox"/> 英語 <input type="checkbox"/> 中国語
共同演者名 Co-presenter					

4. 受賞(研究業績) Award (Research achievement)

名称 Award name			
	国名 Country		受賞年 Year of 年 月
名称 Award name			
	国名 Country		受賞年 Year of 年 月

5. 本研究テーマに関わる他の研究助成金受給 Other research grants concerned with your research t

受給実績 Receipt record	<input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無
助成機関名称 Funding agency	
助成金名称 Grant name	
受給期間 Supported period	年 月 ~ 年 月
受給額 Amount received	円
受給実績 Receipt record	<input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無
助成機関名称 Funding agency	
助成金名称 Grant name	
受給期間 Supported period	年 月 ~ 年 月
受給額 Amount received	円

6. 他の奨学金受給 Another awarded scholarship

受給実績 Receipt record	<input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無
助成機関名称 Funding agency	
奨学金名称 Scholarship name	
受給期間 Supported period	年 月 ~ 年 月
受給額 Amount received	円

7. 研究活動に関する報道発表 Press release concerned with your research activities

※記載した記事を添付してください。 Attach a copy of the article described below

報道発表 Press release	<input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	発表年月日 Date of release
発表機関 Released medium		
発表形式 Release method	・新聞 ・雑誌 ・Web site ・記者発表 ・その他 ()	
発表タイトル Released title		

8. 本研究テーマに関する特許出願予定 Patent application concerned with your research theme

出願予定 Scheduled	<input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	出願国 Application
出願内容(概要) Application contents		

9. その他 Others

--

指導責任者(署名)

宮首弘子



医療通訳の質に影響する日中間医療事情の 差異についての考察

～中国人医療従事者の意識調査を通して～

劉雨桐

1. はじめに

現在、日本はグローバル化の潮流の中で、日本企業の海外進出や国際的な経済活動が活発になり、文化交流、人的交流、観光事業も盛んになってきた。それを背景に、訪日・在日外国人の数は増加の一途をたどっている。2019年法務省出入国在留管理庁の統計によると、2019年6月末の在留外国人数は282万9616人で、前年末に比べて3.6%増加し、過去最高を記録した。

一方、近年旅行に通じて健康回復・維持・増進を意識したものとして、ヘルスツーリズムの概念が注目されている。外務省によると、2010年6月18日に閣議決定された「新成長戦略」では、「ライフイノベーションにおける国家戦略プロジェクト」に「国際医療交流（外国人患者の受け入れ）」が挙げられており、アジアの富裕層等を対象とした健診、治療などの医療および関連サービスを観光とも連携して促進していくとの国家戦略が掲げられた。2011年1月、在外公館において「医療滞在ビザ」の運用を開始してから、メディカル・ツーリズムは国際交流に貢献するものとして期待されている。

このような現状を受けて、外国人の医療問題がますます注目されるようになった。その中、医療現場で外国人患者および外国人患者に対応する医療者が遭遇する言語・文化的障壁は、患者の生命に直結する要因であり、重大かつ喫緊に取り組むべき課題とされる¹。外国人の健康格差を避け、医療現場で円滑なコミュニケーションを実現するために、医療従事者と外国人患者をつなぐプロフェッショナルな医療通訳者は不可欠な存在である。

しかし、医療通訳者は医療現場でしばしば医療事情に対する認識の差異に起因する

1 穴沢良子(2012)「医療通訳トレーニングの実践と評価：アクション・リサーチ実施計画」『通訳翻訳研究』No.12、pp.263-274

問題に遭遇する。なぜなら、医療通訳には他の通訳分野とは異なる特殊な事情が存在するからだ。それは、外国人が病気になったとき、その人をとりまく社会や育った環境による習慣や期待の違いが顕著になるということである。健康観、疾病観、衛生観、死生観など文化間での違いが葛藤を生じやすいのが医療の現場である²。田中郁子・柳澤理子（2013）は外国人医療通訳者が直面する困難について、「病院での受診の流れ、症状に対する考え方や対処方法、手術・入院に要する期間など母国との医療システムや医療に対する考え方の違いにより患者が不満や怒りを表出する時、医師や病院への要求が話の通じる外国人に向けられることがあり、精神的な負担を増大させていく」と指摘している³。

外国との医療システム、医療に対する考え方、医療文化などの差の認識は医療通訳者にとって重要な背景知識である。医療現場で、外国人患者と医療従事者の間の情報量の差を埋めなければ、双方の誤解を招く危険性があるだけではなく、トラブルになる場合、双方に不必要な精神的負担をかける可能性もある。医療現場で外国人との誤解や異文化ギャップを避け、医療通訳の質を向上させるため、医療事情の差異といった背景知識を明確にすることは大変有意義であると考えられる。

本研究の主な目的は、医療従事者の視点から外国人の受診に支障をきたす医療事情の差異を明らかにし、それらの問題についての認識と医療通訳の質の関係性を考察することである。在住外国人の中で最も多い⁴中国人を代表として取り上げ、日本の医療機関で研究活動を行っている中国の医療従事者が気づいた日中医療事情の相異を明らかにする。それは医療通訳の質を向上させるための手がかりになることを期待する。

2. 研究方法

2.1 調査方法とデータ分析方法

本研究の目的に合うデータを収集するにあたって、日中双方の医療現場を知る医療従事者から聴取した情報は何より説得力があると考えられる。そのため、本研究は中国の医療機関での勤務経験があり、博士号取得のためあるいは共同研究を行うために日本の医療機関で研修をした医療従事者を調査対象者に設定し、研究への理解と協力の下で、一人つき30～60分の半構造化面接を行った。調査対象は全員日本語ネイティブではないので、インタビューは研究対象の母語である中国語で行った。調査は2019年11月に実施した。

リサーチクエスチョンの設定にあたって、「はじめに」で述べたように、医療通訳

2 水野真木子（2013）「医療通訳者の異文化仲介者としての役割について」『金城学院大学論集』社会科学編 第10巻第1号、pp.1-15

3 田中郁子・柳澤理子（2013）「外国人医療通訳者の体験した困難とその対処」『国際保健医療』第28巻第4号、pp.305-31

4 法務省 出入国管理統計表（2020年4月23日アクセス）

者が直面する困難を取り上げた先行研究で多く報告された医療事情や文化の背景知識の乏しさに起因するトラブルに焦点を当てた。医療通訳現場でトラブルを巻き起こす医療事情を明確にし、それらの背景知識は医療通訳の質に影響を与えるかどうかを検証するという目的に合わせて、本研究はそれぞれの問題を具体化にし、リサーチクエスチョンを以下のように設定した。

- 1) 日中医療事情に対する理解は通訳の質の向上に影響を与えるか。
- 2) 外来受診・入院の際における日中両国の違いについて。
- 3) 各診療科に存在する医療方針の違いについて。
- 4) 医療現場における医療文化の違いについて。

インタビューは個室で聴取した。具体的にはインタビューの内容を録音し、逐語録を作成した上、調査対象者に内容をチェックしてもらってから日本語に訳した。

分析について、本研究は質的研究方法（グラウンデッド・セオリー・アプローチ）に基づいて次のとおり研究を進めている。

- ① データを数件収集後、データ全体に対するコーディング化作業を開始し、長いインタビューデータを細かく分け、抽象度を上げて単語や箇条書きのラベルにする。
- ② 多様に出現したラベルをまとめ、そこから共通性のあるカテゴリーを見つけ出す。
- ③ 適切なデータを収集するため、数件のデータ収集後に分析作業を行い、再びデータ収集に戻ってデータの備蓄を行う。螺旋状にデータの収集と分析を行うことによって、カテゴリーを精緻化してゆく。

2.2 調査対象者のプロフィールと特徴

調査対象者のプロフィールを表1に示した。

表1 調査対象者のプロフィール

番号	国籍	診療科 ⁵	身分	性別	日本医療機関での 研修年数	中国医療機関での 勤務年数
1	中国	眼科	医師	男性	8ヶ月	14年
2	中国	口腔科	医師	女性	7ヶ月	5年
3	中国	緩和医学	研究者 ⁶	男性	6ヶ月	5年
4	中国	神経内科	医師	女性	7ヶ月	13年
5	中国	耳鼻科	医師	女性	15ヶ月	10年
6	中国	消化器外科	医師	男性	15ヶ月	7年
7	中国	呼吸器外科	医師	男性	3年	4年
8	中国	先端応用外科	医師	男性	2年	3年
9	中国	社会精神科学保健センター	医師	男性	2年	5年

調査対象者は現在日本で研究活動を行なっている中国人医療従事者9名である。適

5 日本の医療機関で使われる診療科名で表記してある。

6 調査対象者3は病院で臨床事例に基づいて研究活動を行なっている。また、中国の病院で管理職に就く人材であるため、病院の運営などマクロな視点からの日中医療事情の見解が期待できる。

切なデータを得るために、調査対象者を選定するにあたって、次の三つの選定基準を設定した。

- ① 中国の医療機関で1年以上の勤務経験。(一年以上中国の医療機関で働くことによって、全面的に中国医療機関の状況を把握することが可能だと考える。)
- ② 日本の医療機関で実際に医療現場を経験。(実習や見学を通じて、日本医療機関の状況もある程度理解できると言えよう。)
- ③ 在日年数は3年以下。(これ以上長すぎると日中両国の違いを敏感に捉える能力が減ると考える。)

また、医療機関の属性別内訳は、私立大学付属病院5名で、国立大学付属病院4名であった。厚生労働省によれば、特定機能病院は高度の医療を提供、高度の医療技術の開発および高度の医療に関する研修を実施する能力等を備えた病院と定義される。そのため、今回考察した情報は日本のハイレベルの医療事情を代表できると言える。

なお、中国の医療機関は一級、二級、三級という三つのクラスに分類され、それぞれのクラスはさらに甲、乙、丙と分けられる。その中で三級甲等はもっとも高いレベルである。一級クラスは「一定の人口規模を有するコミュニティに予防、医療、保健、リハビリテーションサービスを提供する基礎病院、衛生院」と定義され、二級クラスは「複数のコミュニティに総合医療衛生サービスを提供し、一定の教育的、技術的任務を有する病院」と定義される。それに対して、三級クラスの病院は、「複数の地区に専門性の高い医療サービスを提供し、高等教育、技術的任務を有する病院」である⁷。今回の調査対象者は全員三級甲等の医療機関で1年以上勤務した経験があるので、中国の医療事情をより広く考察することが期待できる。

3. 日中間医療事情の差異

外国人医療と強く関わる日中両国の医療事情の差異について、リサーチ・クエスチョンへの回答から「診療事情」、「医療方針」、「医療文化」のカテゴリーに関するデータは確実に収集された。だが、本調査は回答者の回答次第で深く掘り下げられる半構造化面接であるため、設定されたリサーチ・クエスチョンに対する答え以外に医療制度の相異に関する情報も多くの調査対象者から得ることができた。そこで、「医療制度の違い」が患者の受診行動に影響を与えることをカテゴリーとして加え、日中間医療事情の違いを主に4つのカテゴリーに分類した。さらに多様に出現したラベルの共通性を抽出することによって、13のサブカテゴリーにまとめた(表2)。

7 経済産業省(2017)「新興国におけるヘルスケア市場環境の詳細調査報告書 中国編」

表2 日中間医療事情の差異

カテゴリー (4)	サブカテゴリー (13)
診療事情	予約制 医療機関の機能分化 看護師の役割と家族の付き添い
医療方針	患者の背景への重視 疼痛管理 メンタル面を配慮するための投薬や治療
医療文化	健康観 死生観 医者への信頼感 インフォームド・コンセント 漢方（伝統医学）による影響
医療制度	多拠点執業 ⁸ 勤務医の給与

それぞれ主な事例を以下で詳述する。

3. 1 診療事情についての違い

1) 予約制

受診の際における違いについて、最も多く挙げられたのは予約制の違いである。

ここ数年、中国の医療機関は次々と予約制を実施するようになった。しかし、実際に多くの患者が予約せずに押し寄せてくる状況が依然として続いているという声があった。その結果、患者は混雑な環境で長く待つことを強いられ、その後不満の気持ちで募ったまま診療室に入り、このことが医師や看護師との間の齟齬に繋がりやすくなる。それに対して、多くの日本の医療機関は厳しく予約制を実施している。患者が決めた時間帯に来院すればすぐに受診できるので、当日の診療待ち時間が大幅に削減できる。そして、落ち着いた気分が良好な診療効果をもたらすことになる。

しかし、日本の予約制度にも問題がある。それは検査・治療待ち日数である。中国では患者はなるべく受診当日に検査・治療をしてもらえる現状であるのに対し、今回のインタビューで、ある研究対象者は「日本の病院で胃内視鏡を予約しようと思ったが、予約できる日は2ヶ月先になると言われてびっくりした。」と語り、「早期のがんを患う患者が3ヶ月あるいはそれ以上待たせると、病状が進んで取り戻せない結果になってしまう可能性がある。」と懸念を示した。ゆえに、短い待ち時間に慣れた中国人患者が日本の医療機関で長く待たせると納得できない可能性があるという。

2) 医療機関の機能分化

次に多く言及されるのは「医療機関の機能分化」である。

日本の医療機関の役割分担は明確である。大病院は専門的な治療に特化し、診療所や中小病院は慢性期の治療や日常的な健康管理を行う。それぞれの病状に合わせて病

8 多施設勤務とは複数の医療機関での医療行為である。調査対象が話した内容をなるべくそのまま再現させるため、中国語の術語を使うことにした。

院や診療所を使い分けてもらうため、2015年5月に成立した『医療保険制度改革法』により、紹介状なしで大病院を受診する場合、特別の料金を徴収することになった。中国でも現在「分級診療制度」、いわゆる疾病の深刻度によって医療機関を分ける制度の実行に取り組んでいるが、現段階でこの制度が徹底的に貫かれているとは言い難い。

現在、中国の医療保険は入院期間の料金をカバーしているが、外来で発生した費用をカバーしていないため、どこの病院に受診するかは患者次第であり、国が患者の自主的な行動をコントロールできない現状がある。その結果、大病院の負担が重すぎるのに対し、中小型病院やクリニックを受診する患者が相変わらず少ない。

そのため、「ちょっとした病だが、大病院の先生に診てもらわないと安心できない」というのが中国人の一般的な考え方になった。それゆえ、中国人患者が直接日本の大病院に行った際に発生する選定療養費が、トラブルになりやすいと指摘された。

3) 看護師の役割と家族の付き添い

日中の看護師の役割の違いによって、入院生活の面でも大きな違いが存在する。

日本の看護師は診療を補助する上で、食事、排泄補助、入浴介助、検査の付き添いなど療養の世話までする。患者の日常生活を支援し、家族に代わって患者を見守り、快適な入院生活をサポートするのは看護師だという認識は日本人にとって当たり前だ。そのため、日本人は家族が決められた時間内でしか患者と面会できず、見舞いをする際に手続きをする必要があるというルールに違和感を感じない。

一方、日本と比べて看護師の人手不足問題が深刻である中国では、家族の付き添いが必要とされる。食事の差し入れや日常生活上の世話を家族に任せる状況が一般的だ。したがって、もちろん家族との面会は特別な手続きをしなくて済む。このような現状に慣れた中国人にとって、家族の付き添いが認められないことに疑問を抱くだろう。

3.2 医療方針についての違い

今回のインタビューを通して、日中両国の医療方針には共通するものがあると明らかになった。それは「全力かつ効率的に患者の病気を治すこと」である。だが、具体的な医療方針は国民性やその国の医療制度に関わるので、いくつかの相違点も存在する。以下のように詳しく記述する。

1) 患者の背景への関心

7年間中国の医療現場で活躍している調査対象者はインタビューで「我々医者が治すのは病気ではなく、患者だ。」と語り、中国では治療をする際に病気と関係ない患者の背景にも目を配る必要があると指摘した。「経済状況」、「教育背景」、「患者および家族の性格」といった背景の中で、主に配慮されるのは「経済状況」である。中国の医療保険が現段階まで完備されていないので、中国人患者の状況は少し複雑である。医療費が大きな負担とされる患者の家族にとって、家まで売って治療するのに患者が死んでしまうのは一番困る状況であるという。そのため、医療従事者が患者の経済状

況を考えながら、患者が使う薬や治療法を調整し、できるだけ経済的な悩みを抱える患者の負担を軽くする必要があるとされる。

一方、日本の場合、国民健康保健に入っている患者の個人負担医療費は30%しかないので、日本の医師は必要以上に患者の個人情報聞き出すことなく、疾病そのものに力を入れる傾向が強い。

2) 痛みの管理

中国より日本では痛みに対する処置を重視する傾向がうかがえる。

今回のインタビューで「痛みの評価が最も重視される。それは患者の生活クオリティに影響するだけでなく、炎症因子の分泌などにも影響を及ぼす。」と主張する呼吸器外科の調査対象者がいるが、多くの調査対象者はその点について、「どんな病気かをしっかり診断することを重視するが、痛みの管理についてはそれほど重視していない。」と指摘した。その理由として、医学に対する考え方と国民性の違いが挙げられる。ある調査対象者は、虫垂炎を例として挙げた。「盲目的に痛みを抑えると穿孔まで進行してもわからない」ので、具体的な事態に合わせて痛みに対する処置をするべきだと主張する。

また、日本人患者と比べて、中国人患者は痛みを忍耐する傾向があると考えられる調査対象者もいる。本当に痛くても痛み止めの副作用を心配するので、投薬を拒否するケースが報告された。日本では予防的な痛み管理をするので、痛みが起こる前に予防的な投薬をする。しかし、中国人患者にとって、痛くないのになぜ痛み止めを飲まなければならないのかを理解できないという状況がありうるのである。

3) メンタル面を配慮するための投薬や治療

水野真木子（2013）は、医療従事者を対象とするアンケート調査を通して、「検査の結果から医師は病気ではないと言うが、患者が体の不調を訴え、薬を要求する」という現象を明らかにしたが、本調査でも同様な事情があることを判明した。

初めに検査をし、その結果を見て判断を下す治療方針を貫く日本では、当日の診察で薬や治療などを出さないことがある。しかし、中国人の患者は医療機関に来たからには、投薬を含む何らかの治療を求める傾向が強い。そこで、中国の医療従事者は患者の心理的需要を満足させるため、実際には薬がいない患者に薬を出すケースがあることを明らかにした。

3.3 医療文化についての違い

医療の現場で文化差に起因する問題は多くの先行研究で考察されている。日中両国の医療文化には、具体的にどのような違いが存在するかについて、今回のインタビューで得たデータを次のようにまとめた。

1) 健康観

「中国人患者のコンプライアンスが悪い」と多くの調査対象者は指摘した。その理由として、中国人の間違った健康観があげられた。自分で大丈夫だと判断すれば勝手

に服薬を中止したり、再診察に来なくなったりする一部の中国人患者は健康を大事にする意識が乏しいと考えられる。

また、日中両国の健康観を反映する典型的な事例は検診である。中国で検診を受ける人の多くは、検診サービスを提供する職場で働いている。それ以外の人々は定期的に検診を受ける意識が乏しいので、病気が見つかるとかかなり進行してしまう場合がよくある。一方、社会福祉が充実する日本の国民は定期的に検診を受ける習慣があるという。

2) 死生観

医療処置は100%成功するわけではない。万が一治療が失敗する場合、死に至る可能性もある。しかし、日中両国の国民は生と死に対する考え方が異なる。

住宅の近くにお墓があることは、日本人が死をある程度受け入れられる証であると主張する調査対象者がいる。それに対して、墓に対して恐怖心を持ち、死に関する言葉をタブーと思う中国人にとって、死を平気で受け入れるのは難しいと考えられる。その結果、患者が治療中に死亡する場合、家族がその現実を受け入れられず、医療従事者や病院を訴えるトラブルになりやすい。

3) 医師への信頼感

患者が下す判断を信頼する日本人と比べて、中国人は医療従事者を疑う態度を持つ傾向がある。しかし、医療従事者に欲しい薬を処方してもらい、たくさんの質問を持ちかけるなど中国でよくある事柄は日本人医療従事者を怒らせる可能性があるという指摘された。医師への信頼感の欠如に起因する問題について、ある調査対象者は次の事例を紹介した。

「患者は目眩を訴えて受診してきたら、薬の処方もらった。でも医師に『この薬を飲んだらよくなれますか』『いつ治れますか』『いつ仕事に戻れますか』など細かいことをひたすら聞くと、不安障害と疑われ、さらに不安障害を治す薬が処方された。」異文化コミュニケーションを円滑に行うには、医師と患者お互いの信頼感が不可欠である。

4) インフォームド・コンセント

患者の自律を尊重することはインフォームド・コンセントの基本原則であるが、情報開示と説明の対象について、日中両国には大きな文化的ギャップが存在している。

例えば、がんなど難病の告知について、日本では告知を患者本人にし、家族のみなさんに知らせるかどうかは本人に決めてもらうのに対して、中国では真逆だ。実際の医療現場でとても手の焼ける問題は、「患者本人は自分の病状を知りたいが、家族は落ち込んだ気分による治療への悪影響を懸念し、告知に反対することだ。」という。中国の場合、家族の意見に従うのは主流的な考え方とされる。たとえ完全に患者を騙すことができなくても、実際に中期に進んでしまい、薬物療法が必要になるがんを患った患者に「それほど深刻な病気ではない」とごまかす。

5) 伝統医学による影響

日本社会では、西洋医学の見解は医療の主流だと考えられる。しかし、伝統医学が根強く実践されている中国の患者は、西洋医学を中心とする見解になじめないことが多い。

漢方は中国から生まれた伝統医学であるため、「陰陽五行」、「八卦」など漢方の考え方は中国人の様々な面において大きな影響を及ぼしている。例えば、「気血が詰まって通じないことは痛みの原因だ」という漢方の見解を受けて、中国人は水よりお湯を好む。

さらに、古代中国から伝わった言葉に「是薬三分毒（薬に三分の毒がある）」がある。「痛みの管理」で述べたように、中国人は特に西洋薬の副作用に対する警戒心が強い。漢方に不信感を持つ声があるとともに、身体全体の不調を整える漢方薬の「毒」が少ないと信じる中国人も多い。

3.4 医療制度についての違い

1) 多拠点執業

調査対象者の回答で最も多く扱われた医療制度の問題は医師の「多拠点執業」、いわゆる複数の医療機関で務め、医療行為を行うことである。中国は一部の地域で多拠点執業の試行が行われたが、現段階で大多数の医療機関には認められていない。

ある調査対象者は日本の多拠点執業制度を高く評価した。その理由について、「患者さんが家の近くのクリニックで大病院の先生に診てもらえることができるので、もし何かあったらまずクリニックに行く。そうすると、大病院の負担を軽くする効果がある」と述べた。多拠点執業はクリニックと大病院の診療能力の格差を縮小することによって、医療機関の機能分化に貢献できるという観点がうかがえた。

2) 勤務医の給与

医師の種類は大きく勤務医と開業医の2つに分けられる。今回の調査対象者は全員病院に勤めている勤務医であるため、日中両国の勤務医の給与について比較した。

日本の勤務医は、治療した患者数、行う手術の数や病院の経営状況に左右されることなく、安定した収入が得られる。そのおかげで、どのような医療機関に雇われても金銭上の問題を考えずに自分の腕を磨くことに専念できる。それに対して、中国の医療従事者の収入は、多くの場合、患者の数や病院の経営状況に関わる。ゆえに、優秀な人材は患者の多いハイランク病院に集まる傾向がある一方、患者も優先的に大きな病院を受診する傾向がある。

4. 医療通訳における異文化間の医療事情の差異に関する認識の意義

以上は日中両国における医療事情の差異について考察したが、それらの背景知識は医療通訳の質にどのように影響するであろうか。

今回のインタビュー調査で、「日中医療事情に対する理解は医療通訳の質の向上に

影響を与えるか」について、9人の調査対象者の中で8人が肯定的な態度を示した（表3）。理由として、「医療トラブルを避ける」、「医者と患者にとって話しやすいコミュニケーションの雰囲気を作る」、「考え方の違いからもたらされる障壁を越える」が挙げられた。

表3「日中医療事情などの理解は医療通訳の質の向上に影響を与えるか」に対する答え

「はい」と答えた人数（割合）	「いいえ」と答えた人数（割合）
8 (88.9%)	1 (11.1%)

近年厚生労働省が発表した医療通訳者を育成するための実施要領「医療通訳育成カリキュラム基準（育成カリキュラム）」（2017）によれば、医療通訳者は言葉の媒介者として、話し手の意図を正確に理解して、聞き手にその内容を忠実に伝え、対話者間の効果的なコミュニケーションを可能にする以外に、「言語的、文化的、社会的に異なる医療従事者と患者の間に入り、両者の相互理解を支援するため、必要に応じて専門家と患者の間の文化的橋渡しを行う役割も果たしている」とされている。つまり、文化のギャップによるトラブルに遭遇した医療従事者と患者の間に立って相互理解を支援できたかどうかは医療通訳の質を評価する要素の一つであり、母国と対象国の医療事情の差異を把握することは医療通訳者に求められる基本的な認識である、と言えるであろう。

さらに、水野真木子⁹（2013）は「医療提供者は可能な限り患者の文化に合わせる努力をするという発想が乏しい」と指摘している。したがって、医療トラブルの潜在的な起因である文化差をあらかじめ認識することは、円滑なコミュニケーションとスムーズな治療を図る有効的な手段であり、特に診療時間が限られている日中医療現場にとって大変有意義であると考えられる。そこから、医療通訳者は患者が医療現場で直面する困難を理解し相互理解を支援する行動を取ることが医療通訳の質を高めることに直結すると考えられる。

要するに、異文化間の医療事情における差異の認識は医療通訳者として必須の背景知識であり、にわか通訳（双方の言語ができる患者の友人・知人等）と異なりプロの医療通訳者ならではの強みとなる可能性が示唆された。

5. おわりに

今回の調査から、伝統文化背景や経済発展レベルが異なる日中両国には「診療事情」「医療方針」「医療文化」「医療制度」といった4つの点において相違点が存在するこ

9 水野真木子（2013）「医療通訳者の異文化仲介者としての役割について」『金城学院大学論集』社会科学編 第10巻第1号、pp.1-15

とがわかった。その中、「診療事情」は主に外来と入院の仕組みを指し、日中両国の「予約制」、「医療機関の機能分化」、「看護師の役割と家族の付き添い」といった■には違いが存在するので、患者にとっての「当たり前」が異なる。「医療方針」は医者側の処方・治療方針を指し、日中両国の医師にとって、「患者の背景への重視」、「疼痛管理」、「メンタル面を配慮するための投薬や治療医療」に対する考え方がそれぞれ異なる。それに、「健康観」、「死生観」、「医者への信頼感」、「インフォームド・コンセント」、「漢方（伝統医学）による影響」といった医療に関する文化の浸透は知らないうちに患者の行為に影響を与える。それ以外に、調査対象者の■答によると、日中両国の「多拠点執業」、「勤務医の給与」などマクロな医療管理制度の違いも治療の質に影響を与える。医療通訳者は医療従事者と患者をつなぐ存在として、医療事情に関する背景知識を理解した上で、異なる文化背景を持つコミュニケーションの双方に理解してもらうよう努めることは、医療通訳の質に直結する可能性があるといえよう。

現在、医療通訳の質に関わる異国間、特に日中両国における医療事情についての比較研究はまだ不十分である。先行研究の空白を埋めるという意味で、本稿が医療通訳の研究と人材育成の一助になることを期待している。しかし、本稿が提示した医療事情の差異は今回の調査対象者である医療従事者側の考え方であるため、患者側に当てはまるかどうかは別途臨床での詳しい情報確認が必要である。それゆえ、調査対象を拡大して、より具体的に医療事情と文化の差異を掘り下げる比較研究を今後の課題とし、医療通訳の質を高める可能性を追求したいと考える。

参考文献

- [1] 水野真木子 (2008) 『コミュニティ通訳入門』 大阪教育図書
- [2] 寺下貴美 (2011) 「質的研究方法論～質的データを科学的に分析するために～」『日本放射線技術学会雑誌』 第 67 巻第 4 号、pp413-417
- [3] 伊藤美保・飯田奈美子・南谷かおり・中村安秀 (2012) 「外国人医療における医療通訳者の現状と課題—医療通訳者に対する質問紙調査より—」『国際保健医療』 第 27 巻第 4 号、pp.387-394
- [4] 穴沢良子 (2012) 「医療通訳トレーニングの実践と評価：アクション・リサーチ実施計画」『通訳翻訳研究』 No.12、pp.263-274
- [5] 水野真木子 (2013) 「医療通訳者の異文化仲介者としての役割について」『金城学院大学論集』 社会科学編 第 10 巻第 1 号、pp.1-15
- [6] 田中郁子・柳澤理子 (2013) 「外国人医療通訳者の体験した■難とその対処」『国際保健医療』 第 28 巻第 4 号、pp.305-31
- [7] 有馬斉 (2014) 「医療現場における異文化コミュニケーションの問題」『医学哲学 医学倫理』 32 巻、pp71-75
- [8] 灘光洋子・浅井亜紀子・小柳志津 (2014) 「質的研究方法について考える—グランデッ

- ド・セオリー・アプローチ、ナラティブ分析、アクションリサーチを中心として」『異文化コミュニケーション論集 (12)』 pp.67-84
- [9] 寺島理沙子・掘越由紀子・鶴田光子 (2015) 「日本における医療通訳の現場と課題 医療通訳者へのインタビューを通して」『東海大学健康科学紀要』第 21 号、pp.75-87
- [10] 大野直子 (2016) 「医療の場における異文化理解」『順天堂グローバル教養論集』第一巻、pp.70-79
- [11] 石橋敬太郎 (2018) 「外国人が安心できる医療環境を考えてみよう～外国人女性の出産と子どもの受診から～」『北上市多文化共生講談会』、pp.95-104
- [12] 中国卫生部 (2009) 「医師多拠点執業に関する問題についての通知」
http://www.gov.cn/zwgk/2009-09/16/content_1418981.htm (2021 年 1 月 20 日アクセス)
- [13] 閣議決定 (2010) 「「新成長戦略 (基本方針)」について」
<https://www.kantei.go.jp/jp/kakugikettei/2009/1230sinseichousenryaku.pdf> (2021 年 1 月 20 日アクセス)
- [14] 外務省 (2010) 「医療滞在ビザの創設」
https://www.mofa.go.jp/mofaj/press/release/22/12/1217_05.html (2021 年 1 月 20 日アクセス)
- [15] 厚生労働省 (2015) 「紹介状なしの大病院受診時に係る選定療養について」
<https://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-12404000-Hokenkyoku-Iryouka/0000098761.pdf> (2021 年 1 月 20 日アクセス)
- [16] 厚生労働省 (2017) 「医療通訳育成カリキュラム基準 (育成カリキュラム)」
<https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-10800000-Iseikyoku/0000209866.pdf> (2021 年 1 月 20 日アクセス)
- [17] 「外国人患者の受入環境整備に関する研究」研究班 (2018) 「外国人患者の受け入れのための医療機関向けマニュアル」厚生労働省 政策科学推進研究事業
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000173230_00003.html (2021 年 1 月 20 日アクセス)
- [18] 経済産業省 (2017) 「新興国におけるヘルスケア市場環境の詳細調査報告書 中国編」
https://www.meti.go.jp/policy/mono_info_service/healthcare/iryou/downloadfiles/pdf/28fy_detailreport_China.pdf (2021 年 1 月 20 日アクセス)
- [19] 片山ゆき (2018) 「中国の公的医療保健制度についてー老いる中国、14 億人の医療保険制度はどうなっているのか。」ニッセイ基礎研究所
<https://www.nli-research.co.jp/report/detail/id=57625?site=nli> (2021 年 1 月 20 日アクセス)

[20] 法務省 「出入国管理統計表 2019 年」

http://www.moj.go.jp/housei/toukei/toukei_ichiran_nyukan.html (2020 年 4 月
23 日アクセス)

日中対訳に見る職場のポライトネス表現の対照研究

劉雨桐
杏林大学

1. はじめに

異なる言語および文化的背景を持つ話し手と聞き手が円滑にコミュニケーションを行うためには、言語によって異なる適切な人間関係の捉え方を把握することは重要である。適切な距離感、職場で繊細な人間関係を言語的に調整する上で重要な機能を果たしており、通訳者による訳出の仕方は大きな課題となる。Brown & Levinson (以下、B & L)のポライトネス理論において「円滑な人間関係を確立・維持するための言語行動」と定義されるポライトネス表現は、言語によってそれぞれ異なる特徴がある。本稿は、職場での会話を対象に、日中両言語でポライトネスがどのように捉えられ、そして通訳・翻訳されているかを検証する。日本ドラマの中国語字幕と語学教材から抜粋したものをデータとし、言語表現とその訳文に垣間見られる「適切な距離感と人間関係」をポライトネス・ストラテジーの観点から考察する。相手の領域を侵害しないように配慮するネガティブ・ポライトネスを中心に、日中両言語のポライトネス観や文化的背景についても考察していく。

2. 先行研究

社会的な人間関係の中で「人々がどう振る舞いあうか」「人々が言葉を用いて何をなすか」を考察するなら、ポライトネスの理論は大きな役割を果たしうる。

「ポライトネス」は英語の“politeness”に由来する用語だが、「丁寧さ」「礼儀正しさ」など一般的な意味と異なり、「円滑な人間関係を確立・維持するための言語行動」と定義される。B & Lは、「相手からどう思われたい」という欲求を「フェイス (face、承認欲求)」と定義しており、「相手と親しくなりたい、仲間意識を共有したい」というポジティブ・フェイスと「相手から侵害されたくない、独立を保ちたい」というネガティブ・フェイスの2種類に分類した。しかし、言語行動には、不可避免的に相手や自分のフェイスを侵害してしまうものがある。また、フェイスを意図的に脅かすことで果たされる機能もある。B & Lは、このようなフェイスを侵害したり危険に晒したりする行為を “FTA (face threatening acts)” と定義している。

B & Lの理論によると、FTAの度合いの大きさは、フェイスを侵害する危険性の高さによって、以下の五つに分けられる。番号順に言語行動のフェイス侵害リスクが低い。

- ① 直言 (相手に配慮しない)
- ② ポジティブ・ポライトネス (フェイス侵害の軽減を明示的に行う)
- ③ ネガティブ・ポライトネス (フェイス侵害の軽減を明示的に行う)

- ④ ほのめかし（意図伝達を非明示的に行う）
- ⑤ 行為回避（意図伝達を行わない）

両端に位置するのが、配慮度ゼロの「直言」と、極力に相手を配慮し、意図伝達自体を放棄する「行為回避」である。B & Lは、ポジティブ・ポライトネスを「他者に受け入れられたい・よく思われたい」という他者評価の欲求を顧慮する戦略、一方、ネガティブ・ポライトネスを「他者に邪魔されたくない・踏み込まれたくない」という自己決定の欲求を顧慮する戦略と定義し、さらにそれぞれに下位戦略を立てた。以下、本研究で主として扱うネガティブ・ポライトネスの戦略を提示する。

【ネガティブ・ポライトネス・戦略】（一部抜粋）

- 戦略1：慣習的な間接性に訴える
- 戦略2：質問する・曖昧化する
- 戦略5：敬意を示す

言語・文化圏によってポライトネスを表すために用いられる戦略は大きく違う傾向にある。B & Lのポライトネス理論によると、言語行動に伴うフェイス・リスクは「人間関係に関わる社会距離（D）」、「力関係（P）」、「事柄の負荷度（R）」の総合によって測ることができるという。そして、戦略の文化内的分布を異文化間で比較することによって、対人関係のパターンが導き出される。D値とP値の高低に応じた対人関係のパターンから考えると、滝浦（2008）は「日本の社会は〔高D、高P〕のタテ関係から〔高D、低P〕のヨコ関係への移行途中である」という観点を提唱した。言語行動を交わす際に、人間関係の社会的距離（D）に敏感な文化、上下の力関係（P）に敏感な文化とそうでない文化があり、行為が持つフェイス侵害度の全般的レベルも文化によって異なる。

会話通訳をする際、原文と訳文が語レベルで対応しない例がよく見られるのも、対人関係の捉え方に深く関わりがあると考えられる。本稿は円滑な対人関係を求める職場の場面で起こる日本語会話の中国語訳文を対象として、日中言語に多用されるポライトネス・戦略を明確にし、その傾向が生じる背後にある言語形式の要因と文化的要因を分析・考察する。

3. 日本語原文と中国語翻訳のポライトネス比較

本研究は、日本で出版された日本語ネイティブ向けの教科書『ビジネスマンのための日中貿易会話』『新版中国語通訳への道』、そして中国の動画配信サイトで配信された日本の人気職場ドラマ『校閲ガール河野悦子』『これは経費で落ちません』を対象に、職場会話の日本語原文と中国語訳を分析する。ビジネス場面で使う会話の教科書に載

る例文は、典型的な職場関係を想定して作成された文であり、ドラマに出るセリフは職場で実際に使われる発話に近いと言える。訳文は、もともと原文から大きな影響を受けるから、言葉選びは原文に近いのが無難だが、あえてそうしない現象の裏には、言語の特徴が潜んでいると言えるだろう。

例を挙げる際は、まず話し手と聞き手の関係とその会話の背景を説明する。次に、日本語の原文を提示し、中国語の訳文を挙げる。

3.1 原文と相違するポライトネス・ストラテジーを用いる翻訳表現

本節では、原文と訳文で異なるポライトネス・ストラテジーが用いられる例を詳しく説明する。

まず、複雑な敬語体系、豊富な敬語語彙を有しているのは日本語の特徴である。敬語は距離化の表現であり、対象人物を「遠くに置く」ことによって、その領域の侵犯を回避するネガティブ・ポライトネスの一形態である（滝浦 2005:164）。敬語の使用はB & Lの「ネガティブ・ポライトネス・ストラテジー5：敬意を示す」に当てはまる。そのため、日本語はネガティブ・ポライトネスの多用が予想される。それに対して、日本語とは異なり敬語という表現手段が体系化されていない中国語はどのように人間関係を表しているのだろうか。

例(1)：日本の自動車メーカーの中国現地法人の担当者・木村が中国の自動車販売会社を訪問し、販売店契約に関する説明を行う。中国自動車販売会社の社長・陳は取引の支払い条件を尋ねる。

<日本語原文>

陳：支払い条件はどうなりますか？

木村：弊社は、すべての販売店に対してキャッシュ・オン・デリバリーでお願いしております。

<中国語訳文>

陈：支付条件呢？

木村：我公司与所有的经销店之间实行现金交付。

(『新版中国語通訳への道』p.170)

例(1)は社外のクライアントとの会話である。日本語原文は、会話の第三者である「販売店」に対して「お願いする」を用いて、言及する対象への敬意を示した。それはネガティブ・ポライトネス・ストラテジーに属する。ここで注意すべきポイントは、依頼を表す言語表現の内容は「キャッシュ・オン・デリバリー（現金着払い）」である。ビジネスの世界で、金銭のやり取りは基本的な行為で、商品が届くと相手からお金をもらうのは当たり前のことである。ただし、「お願いする」は「作業や行動をするように人に頼むこと」の意味で、下からの姿勢が見られる。それに対して、中国語訳文は

“実行（行う）”という直言の表現が使われている。それは客観的に動作を表す動詞で、敬意を表す意味はない。実に双方を平等な立場で扱われている目線だと考えられる。

しかも、このような訳し方は決して翻訳者の個人的スタイルではない。『ビジネスマンのための日中貿易会話』でも同じ傾向が見える。

例（2）：冷凍大正エビを買付ける商談で行う会話である。日本側の田中は規格に対する中国側の説明を受けた後に、また輸出水産物の検査について説明してもらう。その件について、中国側の張は詳しく説明をした。

<日本語原文>

田中：規格については、詳しいご説明でよくわかりました。我が国の場合、輸
入水産物は厚生省により厳格な検査を受けますが、貴国での輸出水産物の検
査はどのように行われていますか？

張：（略）以上のように厳格な検査を受け輸出しますので、輸入国の消費者は安
心して食べていただけると思います。

<中国語訳文>

田中：关于规格问题，听了详细说明后明白了。我国对进口水产品，厚生省要进
行严格的卫生检查。请问贵国对出口水产品的卫生检查是怎么进行的？

张：（略）经过上述严格检查以后出口的，我想进口国的消费者是可以放心食用的。
（『ビジネスマンのための日中貿易会話』 p.14）

日本語原文での「食べていただける」は敬語表現である。たとえ不特定多数の「消費者」に対しても日本語ではネガティブ・ポライトネス・ストラテジーが用いられている。一方、中国語も例（1）のように“食用（食用にする）”という客観的で、語彙レベルで敬意を含んでいない言葉が選ばれている。ただし、話し言葉で“吃（食べる）”という表現もあるが、わざわざ改まり度の高い書き言葉を選ぶのは、一定の敬意を表していると解釈できる。このような言葉使いは会話の雰囲気作りに貢献する効果が大きいと考える。つまり、「会話は非常に正式な会談で、すべての言葉選びは慎重に行っている。軽い気持ちではない」というメッセージを相手に伝え、その対象は話題に表れる第三者の「消費者」および参加者の聞き手に敬意を表す機能がある。

そこから、中国のビジネス場面では、対等な人間関係の構築を求め、過度な謙遜を避ける傾向がうかがえる。また、中国語は日本語と比べて、敬語表現は少ないが会話においてフォーマル度の高い書き言葉を用いて、一定の敬意を表す機能があると言える。

ほかにも、理解価値の等価性がないと思われるぐらい原文の内容と違う訳も見られる。

例（3）：日本の電機メーカーの営業責任者が中国の電機メーカーを訪問し、液晶パネル生産設備の販売契約に関する説明を行う。日本電機メーカーの川端部長は

中国側の盧社長に契約書の確認をお願いしている。

<日本語原文>

川端：第5条以下は、…、特に問題はないかと思いますが念のためご確認ください。

盧：日本で打ち合わせた内容は、ほぼその通りに盛り込まれていると思います。

特に、こちらからは訂正や補足する点はありません。

川端：ご同意いただきまして、ありがとうございます。

<中国語訳文>

川端：第5条…。我想应该没有问题，但为谨慎起见，请贵公司再次确认。

卢：基本上已将在日本谈过的内容写在合同里了。我方没有需要特别修改或补充的地方。

川端：那就好。

(『新版中国語通訳への道』p.174)

例(3)は非常に典型的な日本式会話である。話し手の「ご確認ください」の要求に対して、聞き手は「特に、こちらからは訂正や補足する点はありません」と答え、「同意」の意味をはっきり出した。そこで隣接ペアが成立し、会話の一ラリーが終わるはずだが、話し手は「ご同意いただきまして、ありがとうございます」という丁寧な表現を用いて、わざわざ相手の「認め」を感謝する。このような過度な感謝は敬意を示す一つ的手段として考えられる。それに対して、中国語の“那就好(それなら良かったです)”は契約について双方が合意に達することに対して評価をするだけで、相手の回答を受け取ったサインを出し、次の会話に進んでもらう機能もある。直言のストラテジーと言えるだろう。

例(4)：日本側の企業担当者が自分の会社の近年の成長について、中国側に紹介する。

<日本語原文>

担当者：弊社の親会社である平成自動車は全世界での事業展開を進めており、おかげさまでここ数年は中国のお客様からもたいへん高い評価をいただいております。

<中国語訳文>

负责人：平成汽车公司是我方的总公司，作为汽车厂商，在全球范围发展业务。近年来，也受到中国用户的好评。

(『新版中国語通訳への道』p.168)

この例にも、上記の例(1)、(2)と同じく、話題に出る第三者に対して敬意を示す表現を用いる現象が観察される。ただし、日本側の企業担当者が自社の成長を紹介する際に用いた「おかげさまで」に注目してほしい。それに当たる表現“托您的福”は

中国語に確かにあるが、ここでは訳されずに省略された。実際に会話に参加する双方を分析してみると、日本側の事業展開のために聞き手が力を貸したわけではない。業績は聞き手に直接な関係がないにも関わらず、自分の成長や成績を相手の功績にするという行為は過度な謙譲を用いて、相手に対して敬意を示す。しかし、中国語はこのような機嫌を取ると疑われる言葉を除き、相手との距離を調整するストラテジーを使用せずに、客観的な情報だけを提示している。

例（5）：部長は新入社員を部屋に連れてきて、部下たちに紹介しようとして、仕事に集中している部下たちに注意を促す。

<日本語原文> 部長：みなさん、ちょっとよろしいですか。

<中国語訳文> 部长：大家请先停一下。

（『校閲ガール河野悦子』）

これは上司から部下に発する会話だが、かなり丁寧な言い方が用いられている。「よい」と「だろうか」それぞれの丁寧体を組み合わせて、「よろしいでしょうか」という言い回しになっている。この表現自体は目上の相手に許可を求める際や問題の有無を確認する際に多く使われている。さらに、そこで実際に言いたいのは「手元の仕事を止めて私の話を聞いて欲しい」であるが、「時間があるかどうか」について相手に問いかける。グライスが言うところの「関係の格律」⁽¹⁾に意図的に違反しているが、条件を暗示することによって、相手に要求する表現は典型的な「ほのめかし」である。一方、中国語の“请先停一下（ちょっと止めてください）”は控え目の垣根言葉を用いて発話を和らげたが、核心的な内容、つまり相手にやって欲しいことをストレートに聞き手に投げた。このようなコミュニケーション方略はネガティブ・ポライトネス・ストラテジーに属する。

3.2 原文と一致するストラテジーを用いる翻訳表現

本節では、日本語の原文と中国語の訳文で同じストラテジーが用いられてはいるが、下位ストラテジーが異なる例を挙げる。

例（6）：ビジネス交渉で「反論」する際に使える例文として挙げられた表現。

<日本語原文>

担当者：我々としてもできる限りのことをしておりますので、すべてを我々のせいにされても困ります。

<中国語訳文>

负责人：我们已经尽己所能，如果将所有责任推给我方，不太合适。

（『中国語通訳への道』 p.180）

「こちらが困ります」とだけ言及し、言外の真意を相手に推測してもらう表現となっている。これは「ネガティブ・ストラテジー1:慣習的な間接性に訴える」に該当する。もし日本語の表現を直訳すると、“我们会很困扰”になるが、この表現は中国語で慣習的な表現として定着していないため、言葉のニュアンスは人によって受け入れ方が異なり、共通性に欠ける。これと比べて、“不太合适（ちょっと適切ではない）”のように、直接に否定の意味を出してから垣根言葉を用いて対立の緊張感を避けた訳し方（ネガティブ・ポライトネス・ストラテジー2:質問する・曖昧化する）が中国語の習慣にふさわしい。

例(7):日本の電機メーカーが中国の電機メーカーと販売契約を結ぶ前に、具体的な出荷スケジュールについて中国側に説明する。

<日本語原文>

担当者:具体的な船名が決まりましたら、追ってご連絡させていただきます。

<中国語訳文>

负责人:确定船号后再通知贵公司。

(『中国語通訳への道』p.174)

「させていただきます」はビジネスでのやり取りでよく使われる敬語である。この言葉は「させてもらう」の謙譲語にあたり、文化庁の文化審議会答申(2007)でまとめられた「敬語の指針」では、「自分側が行うことを、相手または第三者の許可を受けている」あるいは「自分が行うことによって恩恵を受けるという気持ち、または事実がある」際に使う言葉と定義されている。つまり、自分の地位を下げて、謙虚な姿勢を示すことによって、相手に敬意を表す効果がある。一方、中国語は呼称に“貴”をつける方法によって、直接に相手の地位を高めている。

例(8):上司がレジャーランドの経費について、経理部の部員に意見を聞く。

<日本語原文>

上司:森若くん。経理担当者として、見解をお聞きしたい。

経理部部員:今回一連のレジャーランドの件を、リサーチ費として処理するのは厳しいかと。

<中国語訳文>

上司:森若, 作为会计, 我想听听你的意见。

会计:这次一连串的度假乐园费用 作为调研费来处理我觉得有点困难。

(『これは経費で落ちません』)

意見表明も相手のフェイスに踏み込みやすい場面であるので、日本語と中国語はともにフェイス侵害を軽減する表現を用いた。日本語原文は「厳しいかと」という言い

さしの表現を用い、結論の是非を判断する決定権を相手に渡す。はっきり自分の意見を表明する「と思います」などは用いずに言い止すことで、意見が一致しない際のフェイス侵害感を避ける。B & Lが提唱したネガティブ・ストラテジーの観点から見ると、「ストラテジー2：質問する・曖昧化する」に当てはまる。中国語は同じく曖昧化の方法（垣根言葉）を用いて、“有点（ちょっと）”という表現で発話を和らげたが、自己の発言に責任を持って“我觉得（私は…と思う）”と訳されている。

3.3 まとめ

以上のように、様々な職場の場面に見られた日本語の言語行動は中国語よりフェイス侵害度の低いストラテジーを用い、相手のフェイスを脅かさない傾向が明らかになった。

職場で円滑なコミュニケーションを促し、相互理解を深めるのは翻訳・通訳の重要な役目であるため、もちろん翻訳・通訳をする際に、各対象言語の文化背景に配慮の上、適切な対人関係の距離感を調整しなければならない。以下では、発話行為に伴うフェイス・リスクに大きく影響する「人間関係に関わる社会距離（D）」、「力関係（P）」、「事柄の負荷度（R）」といった三つの尺度から分析する。

例（1）、（2）、（4）で示されたように、職場で使われる中国語は、情報伝達を主な目的とする陳述文を述べるのがほとんどで、常に平等な対人関係を念頭において、相手に「敬意」をある程度示すがフェイス侵害を避ける「配慮」の度合いは低い。例えば、呼称に敬意を表すが、動詞・名詞の言葉選びをする際に「敬遠」より「直言」、相手への配慮の度合いよりはっきり情報を伝える言語機能を重視している。しかし、日本語であろうと中国語であろうと、職場でネガティブ・ポライトネス・ストラテジーの使用頻度は非常に高いことが共通の特徴である。特に、社内の上司と部下など上下関係が強く強調される場合、中国語も日本語と同じくネガティブ・ポライトネス・ストラテジーをとる場合が多い。ここから、ビジネス場面における中国語は〔低D、高P〕のパターンに近いと言えるだろう。また、同じ行為であっても文化が異なると人々の受け入れ方が違う。例えば、例（1）で示すように、当たり前な取引行為に対して、原文と違って平等な目線で対話を展開すると中国語の訳が自然になる。それこそR値、つまり「行為がそれぞれの文化内でどの程度の負荷になる」の違いから起こった現象である。簡単に他人の邪魔をしたくない、依頼しにくい日本の文化は中国の文化よりR値が高いことは明らかである。

職場での会話においては、円滑なコミュニケーションを実現するために相手に好かれたいと思いがちだが、日本語から中国語に訳すとき、対象言語の対人関係の特徴を無視して、配慮度の高い表現で過度な謙遜や敬意を示すと逆効果になる危険性がある。

4. 言語形式についての考察

日本の職場、特に社外のクライアントとコミュニケーションを取るビジネス場面に

において、敬語あるいは敬体の多用が明らかな特徴として捉えられる。

ネガティブ・ポライトネス・ストラテジー 5 によると、「敬意を示す」ことは相手の私的領域に踏み込まないようにする有効的な手段である。敬語は社会的人間関係を認識し、わきまえとしての敬意を払う必要がある場合に使われる言葉である。話し手によるある言語行動の遂行において、聞き手のネガティブ・フェイスを侵害する恐れがある場合に、敬語の使用は話し手と聞き手の距離を保持したり、さらに拡大したりする機能を持ち、フェイス侵害を減じるための言語的補償行為であるネガティブ・ポライトネスにとって大いに貢献できる。確かに、敬語系が発達していない中国語には、敬語の使用は減多にない。

王 (1989) は、敬語表現を人称的 (即ち、人の呼び方)、選語的 (即ち、語彙的手段によるタイプ)、接辞的 (即ち、接辞的な手段によるタイプ)、構文的 (即ち、構文的手段によるタイプ) に分けた。接辞的な敬語表現と人称以外の語彙的敬語表現は中国語には少ないが日本語では多く見られる。たとえば、現代中国語には、“貴” “拝” などの接頭敬語表現があるが、それは書簡や公式文書に用いられ、日常生活ではほとんど使われない。それに対して、日本語の「お」「ご」「さま」などは日常会話でもよく耳にする。また、日本語では尊敬語、謙譲語、丁寧語の三つとも発達しているが、中国語には尊敬語はあるが謙譲語は少ない。中国語ではほとんど限られている接辞表現や呼称で敬意を示すため、その頻度が日本語と比べて少ないのは当然であろう。

しかし、中国語に「敬意表現」がないというわけではない。例えば、例 (1)、例 (2) のように、中国語には改まり度の高い書き言葉を選び、敬意を表す方法がある。言葉のニュアンスによって会話全体の雰囲気を作り出し、「この会話は正式なもので、すべての言葉選びは慎重に行っている。軽い気持ちではない」というメッセージを相手に伝える。そのため、会話において中国語の書き言葉は日本語の敬体と同じようにある程度相手と距離を置く機能を持っていると言えるだろう。

5. 文化的要因についての考察

職場はコミュニケーションを重視しなければならない場である。円滑なコミュニケーションを実現し、着々と仕事を進めるといった目標は同じだが、日本語は中国語より配慮度の高いストラテジーを用いるのはなぜだろうか。その理由は両国の文化に深く関わると考える。

文化の差異を理解するために、まず例 (8) を再び分析しよう。他人の領域を侵犯するリスクの高い意見表明の場面に対して、中国語の訳文は「自己」の存在を隠さないが、日本語原文は極力「自己」の存在を目立たなくする。そこから、日中両国の文化で「自己」の位置付けは異なることが浮き彫りになった。

日本も中国も東アジア地域の国家であり、個人と集団の調和という伝統的な考え方は一致するが、北山 (2013) はポライトネスを論じる文脈で、日本人の方が中国人より “a tight culture” を有しているため、社会的な「和」をより強く重んじることを指摘

した。こうした「集団主義」・「個人主義」に関する認識の相違は両国の社会人を育む教育方式にも反映している。山田（1999）は日本と中国における学校行事を対象にする比較研究を通して、社会はどのように集団と個を捉えるかを考察した。その結果、中国は生徒の個性を伸ばすために、生徒一人一人の資質と特性を見出し、それを伸ばすための特別な教育や活動に従事させる。一方、日本はとにかく全員が何らかの役割を持って参加する。個人競争の結果より団体競争の結果を重んじる。それゆえ、こうした教育方針に育てられる日本人は、誇りや怒りといった自己に関わる感情表現が社会の「和」を乱すという考え方に従って、自己の感情を隠す言い回しを多用することになる。日本語が中国語ほど多くの直言のストラテジーを使わないのはそうした理由があると考えられる。

6. おわりに

本稿は Brown & Levinson のポライトネス理論に基づき、語用論の視点から職場での会話とその訳文を考察した。日本ドラマの中国語字幕と語学教材から抜粋した訳文から、日中両言語の職場における会話がそれぞれどのようなポライトネス・ストラテジーを用いて人間関係の親疎を表すかについて分析した。

職場における会話の中で、中国語は日本語より直言の使用頻度が明らかに高いが、社内の上下関係に関わる場面では同じくネガティブ・ポライトネス・ストラテジーを用いることが多い。B & L理論のD（人間関係に関わる社会距離）・P（力関係）・R（事柄の負荷度）の3要素から見れば、日本の社会は〔高D、高P〕のタテ関係から〔高D、低P〕のヨコ関係へ移行する途中とされているが、中国語は〔低D、高P〕のパターンに近いと言える。それに、簡単に他人の邪魔をしたくない、依頼しにくい日本の文化は中国の文化よりR値が高い。

その背後にある要因について、言語形式と文化差異2つの側面から考察した。日本の職場において敬語が多用される一方で、中国語では少ないことから、言語の敬語表現の発達度はネガティブ・ポライトネスの使用に影響を与えることを浮き彫りにした。ただし、中国語の書き言葉は日本語敬体と同じようにある程度相手と距離を置く機能を持っている。さらに、「集団主義」・「個人主義」に関する認識の相違は日中職場ポライトネスに差異をもたらす文化的要因であり、日本人は中国人より社会的な「和」をより強く重んじる傾向にあるので、自己の感情を隠す言い回しを多用することになる。

以上のように、言語が異なれば配慮の仕方や好まれる表現方法も異なってくることは明らかである。通訳・翻訳に際しては、本稿で示したように、単に目標言語で対応すると思われる表現に置き換えるだけでは不十分であり、ポライトネス効果が等価となるよう、確かな見識と細心の注意が必要である。ポライトネス的な配慮の適切な表出は、翻訳・通訳の質を左右すると考えられるのである。

注：

- (1) 会話が円滑になるための大前提としてグライス (1967) が提唱した「協調の原理」は、「質・量・関係・様態」といった4つの会話の格律から構成されている。その中、「関係の格律」とは、「関連性がある話をしなさい」ということである。グライスは、私たちの日常会話には、意図的に格律から逸脱して、言外の意味を「含み」として伝えようとする現象があることも指摘している。

参考文献

- [1] 日中貿易用語研究会 (1981) 『ビジネスマンのための日中貿易会話』東方書店
- [2] 王鉄橋 (1989) 「現代中国語の敬語表現 — 日本語との比較」『言語と文化』第2号、pp.25-48
- [3] 山田真紀 (1999) 「集団主義と個人主義再考 — 日本と中国における学校行事の比較を通して」日本教育社会学会大会発表要旨集録(51)、pp.115-116
- [4] 西原鈴子 (2002) 「ポライトネスに関する対照語用論的研究」『社会言語科学』第5巻第1号、pp.101-104
- [5] 滝浦真人 (2005) 『日本の敬語論』大修館書店
- [6] 滝浦真人 (2008) 『ポライトネス入門』研究社
- [7] 牛江ゆき子・西尾道子 (2009) 「日本語映画の英語字幕に見られるポライトネス」『日本通訳翻訳学会』(9)、pp.253-272
- [8] 北山環 (2013) 『ビジネス場面におけるポライトネスの考察 — アメリカ・イギリス・日本映画に表れる依頼・対立・謝罪表現の分析 —』大阪教育図書
- [9] 塚本慶一 (2013) 『新版中国語通訳への道』大修館書店
- [10] 大塚生子 (2013) 「ポライトネス理論におけるフェイスに関する一考察」『近畿大学教養・外国語教育センター紀要』外国語編4(1)、pp.55-77
- [11] 福田一雄 (2013) 『対人関係の言語学』開拓社
- [12] 加藤重広・澤田淳 (2020) 『初めての語用論』研究社
- [13] 文化審議会答申 (2007) 『敬語の指針』文化庁 https://www.bunka.go.jp/seisaku/bunkashingikai/sokai/sokai_6/pdf/keigo_tousin.pdf

日中医学協会 > ブログ > 日中笹川医学奨学金制度 > 日中笹川医学奨学生が日本の小説を中国語に翻訳出版！

最新の投稿

2021/02/05

日中笹川医学奨学金制度<学位取得コース>研究者が千葉大学で博士学位を取得！

2021/01/21

笹川同学会の地域医療支援活動が四川省雅安市で実施されました

2021/01/14

日中笹川医学奨学生が日本の小説を中国語に翻訳出版！

カテゴリ

医療視察団の招請 (5)

学会会議 (8)

日中医学協会 (12)

日中笹川医学奨学金制度 (52)

研究助成 (4)

訪日研修支援 (4)

アーカイブ

2021年2月 (1)

2021年1月 (3)

2020年12月 (3)

2020年11月 (3)

2020年10月 (2)

2020年9月 (4)

2020年7月 (1)

2020年6月 (4)

2020年5月 (1)

2020年4月 (2)

2020年3月 (3)

2020年2月 (2)

2020年1月 (5)

2019年12月 (3)

2019年11月 (5)

2019年10月 (2)

2019年9月 (2)

2019年8月 (3)

2019年7月 (4)

2019年5月 (2)

2019年4月 (3)

日中笹川医学奨学生が日本の小説を中国語に翻訳出版！

2021/01/14



日中笹川医学奨学金制度第41期研究者、劉雨桐さんが中国語に翻訳した『ミナトホテルの裏には』（寺地はるな著）が2020年9月に中国の浙江文芸出版社より出版されました。

劉さんは、西安交通大学外国語学院日本語科修士課程を卒業、2019年4月より杏林大学大学院国際協力研究科博士課程で医療通訳の研究をしています。

劉さんが今回の翻訳を通じて得た日本語への深い理解は、医療通訳の研究に大いに活かされ、日中両国の患者と医療者との交流の発展に貢献されることを期待しています。

【劉雨桐さんからのコメント-翻訳に寄せて】

大学院時代に、日中笹川医学奨学金制度の先輩である李国棟先生（西安交通大学外国語学院日本語科副教授）のご紹介で、浙江文芸出版社の小説翻訳の仕事を引き受けました。幼少期より書くことが好きだった私にとって、これはとてもワクワクする体験と挑戦でした。

翻訳をし始めて、初めて文学翻訳の難しさを実感しました。文学は他の分野と違い専門用語は少ないですが、原文の微妙なニュアンスを外国の読者に適切な言葉で伝えることがとても難しく、キャラクターに合うセリフや文化的要素を上手く翻訳するには、非常に高い文学的表現力が必要です。加えて、翻訳する際に、日本語と中国語の言語的特徴にも配慮しなければなりません。例えば、

曖昧表現の多用は日本語の典型的な特徴で、「以心伝心」の文化を持つ日本人同士では曖昧な表現でも双



翻訳した劉雨桐さん

2019年3月 (2)
2019年2月 (1)
2019年1月 (1)
2018年12月 (1)
2018年11月 (4)
2018年10月 (3)
2018年9月 (1)
2018年8月 (3)
2018年7月 (1)
2018年6月 (2)
2018年4月 (1)
2018年3月 (3)
2018年1月 (1)
2017年12月 (1)
2017年11月 (2)
2017年10月 (1)

方の理解に齟齬が生じることはありませんが、それをそのまま中国語に訳すと、読者は話の内容をうまく理解できない可能性があります。そのため、いかに等価な翻訳を実現できるか、これからも引き続き研究すべき課題であります。

最後に、翻訳にあたり多大なご協力をいただきました皆様に、この場をお借りし、心から感謝を申し上げます。今回の文学翻訳の実践から得た日本語への深い理解を医療通訳の研究に活かし、日中両国間の医療分野の交流促進に寄与できるよう頑張ります。

検索

キーワードを入力してください



LINK リンク集

- ＞ 公益社団法人 日本医師会
- ＞ 日本医学会
- ＞ 公益社団法人 日本歯科医師会
- ＞ 日本歯科医学会
- ＞ 公益社団法人 日本薬剤師会
- ＞ 公益社団法人 日本看護協会
- ＞ 公益社団法人 日本女医会
- ＞ 公益財団法人 日本財団
- ＞ 公益財団法人 笹川保健財団
- ＞ 在中国日本国大使館
- ＞ 中華人民 共和国駐日本国大使館
- ＞ 中華人民 共和国国家衛生健康委員会 (中国語サイト)
- ＞ 中華医学会 (中国語サイト)
- ＞ 中日友好医院 (中国語サイト)
- ＞ 笹川医学奨学金進修生同学会 (中国語サイト)

HOME

[ご挨拶](#)

[日中医学協会について](#)

[協会概要](#)

[設立の経緯・沿革](#)

[役員名簿・組織図](#)

[情報公開](#)

事業活動

[日中笹川医学奨学金制度](#)

[第44期生募集](#)

[専門家派遣](#)

[医療視察団の招請](#)

[日本医療の中国展開支援](#)

[学術会議開催](#)

[【オンライン開催】日中病院管理シンポジウム](#)

[訪日研修支援](#)

[研究助成](#)

[機関誌『日中医学』](#)

[機関誌『日中医学』投稿原稿募集](#)

[機関誌『日中医学』広告掲載募集](#)

入会のご案内

[オンラインでのお申込み](#)

[FAXでのお申込み](#)

[寄附のお願い](#)

[アクセス・お問い合わせ](#)

[お知らせ](#)

[日中医学協会ブログ](#)

[日中医学協会ブログ \(old\)](#)

日中笹川医学奨学金制度(学位取得コース)評価書

課程博士：指導教官用



第41期


研究者番号： G4107

作成日： 2021年3月 日

氏名	許 婧	XU JING	性別	F	生年月日	1987. 11. 22
所属機関(役職)	貴州医科大学附属医院内分泌代謝病科(主治医師)					
研究先(指導教官)	金沢医科大学糖尿病・内分泌内科(古家 大祐教授)					
研究テーマ	SGLT-2 阻害薬と糖尿病性腎臓病 The significance of sirtuin and SGLT-2 against diabetic nephropathy					
専攻種別	<input checked="" type="checkbox"/> 論文博士			<input checked="" type="checkbox"/> 課程博士		

研究者評価(指導教官記入欄)

成績状況	<input checked="" type="checkbox"/> 優 <input type="checkbox"/> 良 <input type="checkbox"/> 可 <input type="checkbox"/> 不可 学業成績係数=	取得単位数
		特になし。 英語語学試験合格 2020. 10
学生本人が行った 研究の概要	研究課題; SGLT2 阻害薬の糖尿病性腎臓病における保護作用機構 研究内容; オートファジーと炎症は、糖尿病性腎臓病の病因とされている。そこで、本研究では臨床的に心・腎保護作用を発揮すると明らかにされてきたダパグリフロジンあるいは SGLT2 si RNAを用い、高ブドウ糖に曝したヒト培養近位尿細管細胞におけるオートファジーフラックスと AMPK 活性化を検討した。高ブドウ糖に曝したヒト培養近位尿細管細胞において、オートファジー不全が生じたがダパグリフロジンあるいは SGLT2 si RNA によってそれら変異は AMPK 活性化を介して改善された。高ブドウ糖に曝したヒト培養近位尿細管細胞は、AMPK 活性化を抑制して NF-κB および HIF-1α の核内移行と NLRP3 活性化を惹起して IL-1β および TNF-α 産生が亢進したが、ダパグリフロジンあるいは SGLT2 si RNA によって、それら炎症惹起機構が改善された。以上の結果から、高ブドウ糖に曝されたヒト培養近位尿細管細胞は、オートファジー不全と炎症が惹起され障害されるが、ダパグリフロジンあるいは SGLT2 si RNA はそれらを抑制することによって近位尿細管細胞に保護的に働くことが明らかとなった。今後、酸化ストレス発生に関わっているかを検討する予定である。	
総合評価	【良かった点】 既に、英語能力に優れており、研究室における会話を含め研究手技の獲得がみられたが、さら飛躍的に向上した。既に、英語総説および論文は筆頭著者も含め Front Physiol. 2020、Aging (Albany NY). 2020、Biomedicines. 2021 に掲載されている。	
	【改善すべき点】 特になし。	
	【今後の展望】 既に、論文博士の語学試験には合格しており、予備審査の準備に入っている。	

学位取得見込	上記の研究概要は、これから論文博士の予備審査にむけて準備を進めている。その後、Cellsに論文を投稿して採択されたら、2022年3月にて研究期間3年を経過するため、既に、論文博士の語学試験も合格しており、本審査を受ける予定である。
評価者（指導教官名）古家 大祐 	

日中笹川医学奨学金制度(学位取得コース)報告書 研究者用



第41期

研究者番号: G4107

作成日: 2021年3月1日

氏名	Xu Jing	許 婧	性別	F	生年月日 1987. 11. 22
所属機関(役職)	貴州医科大学附属医院内分泌代謝病科(主治医師)				
研究先(指導教官)	金沢医科大学 糖尿病・内分泌内科(古家 大祐教授)				
研究テーマ	SGLT-2 阻害薬と糖尿病性腎臓病 The significance of sirtuin and SGLT-2 against diabetic nephropathy				
専攻種別	論文博士	<input checked="" type="checkbox"/>	課程博士	<input type="checkbox"/>	
<p>1. 研究概要(1)</p> <p>1) 目的(Goal) To evaluate mechanism of dapagliflozin on the treatment of diabetic kidney disease (DKD)</p> <p>2) 戦略(Approach) In high glucose-induced human proximal tubule cells, SGLT2 inhibitor dapagliflozin restores impaired autophagy via AMPK/ mTOR pathway and suppresses inflammation via AMPK/ NF-κB pathway.</p> <p>3) 材料と方法(Materials and methods)</p> <p>3.1 Cell culture Human kidney proximal tubular cells (HK-2 cells) were cultured in Keratinocyte-SFM (K-SFM) medium. When cells were 70-80% confluence, the medium was replaced with fresh medium, high glucose or HG with dapagliflozin for 48 h.</p> <p>3.2 Transfection of small interfering RNA (siRNA) HK-2 cells were cultured in K-SFM medium in six-well plates, transfected with siRNA targeting SGLT2, RELA, AMPK, or negative control siRNA via Lipofectamine 2000 and incubated for 6 h, then replaced by fresh K-SFM medium with fresh medium or HG (30 mM) for 48 h.</p> <p>3.3 Western blot analysis Primary antibodies including SGLT2, NF-κB p65, NLRP3, IL-1β, TNFα, p-AMPK, AMPK, p-RPS6, RPS6, LC3, Histone H3, β-actin at 4$^{\circ}$ C overnight.</p> <p>3.4 Autophagic flux assay Autophagic flux was calculated by subtracting the densitometry value of normalized LC3-II in the sample treated with Chloroquine (CQ, 50 μM) by the value in the sample treated without CQ.</p> <p>4) 実験結果(Results)</p> <p>4.1 Dapagliflozin activated AMPK in a dose-dependent manner and restored impaired autophagic flux via AMPK/ mTOR pathway. Compared with control group, HG suppressed AMPK phosphorylation. Dapagliflozin phosphorylated AMPK in a dose dependent manner. HG inhibited autophagic flux, while dapagliflozin restored HG-impaired autophagic flux. To investigate the mechanism underlying dapagliflozin on autophagy, AMPK siRNA was used to attenuate the effect of dapagliflozin. AMPK knockdown activated p-RPS6, a classic downstream protein of mTOR, which leads to the suppression of autophagic flux induced by dapagliflozin. Rapamycin, an inducer of autophagy, exhibited a negative regulation of p-RPS6 to further activate autophagic flux. These results indicated that the effect of dapagliflozin on autophagy may be dependent on AMPK/ mTOR pathway.</p> <p>4.2 SGLT2 inhibition suppressed proinflammatory cytokines in HG treated HK-2 cells. Compared with control group, HG group showed up-regulation of SGLT2, down-regulation of p-AMPK and a concomitant increase of proinflammatory cytokines such as TNFα and mature IL-1β. With the treatment of dapagliflozin or SGLT2 knockdown via SGLT2 siRNA, phosphorylation of AMPK was restored and inflammatory changes can be alleviated significantly. These results suggested that SGLT2 inhibition can alleviate HG-induced inflammation.</p> <p>4.3 SGLT2 inhibition suppressed HG-induced nuclear NF-κB p65 and NLRP3 activation. To further explore the mechanisms underlying anti-inflammatory mechanism of SGLT2 inhibition, nuclear and cytoplasmic proteins were prepared after dapagliflozin treatment or SGLT2 knockdown via SGLT2 siRNA. Compared with control group, HG promoted NF-κB p65 into the nucleus, accompanying with increases of cytoplasmic NLRP3, TNFα and mature IL-1β. Both dapagliflozin treatment and SGLT2 knockdown significantly suppressed these changes. These results indicated the anti-inflammatory effects of SGLT2 inhibition may contribute to suppressing NF-κB p65 translocation in HG-treated HK-2 cells. To confirm our hypothesis, RELA siRNA was used to block the aggregation of nuclear NF-κB p65 induced by HG. With the efficient knockdown of nuclear NF-κB p65, significant down-regulation of cytoplasmic TNFα, NLRP3 and mature IL-1β were observed. These results indicated that SGLT2 inhibition may alleviate HG-induced TNFα via suppressing nuclear NF-κB p65, and mature IL-1β via NF-κB p65/NLRP3 signaling.</p>					

1. 研究概要(2)

4.4 Dapagliflozin suppressed HG-induced nuclear NF- κ B p65 via activating AMPK.

To investigate the effect of AMPK on inflammation, AMPK siRNA was used to attenuate the effect of dapagliflozin. As is shown in Figure 6, dapagliflozin inhibited HG-induced nuclear NF- κ B p65, while AMPK knockdown restored it. This effect resulted in the inducing of TNF α , NLRP3 and mature IL-1 β in cytoplasm. These results indicated that the effect of dapagliflozin on inflammation may be dependent on the suppression of nuclear NF- κ B p65 via AMPK activation.

5) 考察(Discussion)

T2DM is characterized by marked suppression of AMPK phosphorylation and impaired autophagy [1]. Previous study showed that SGLT2 inhibitors have a dose-dependent effect on AMPK activation [2] and activate autophagy via AMPK/ mTOR pathway [3, 4]. Our results were consistent with these previous results. There was an interesting phenomenon in our experiment. Compared with other groups, the basal LC3-II was significantly increased in AMPK knockdown group. However, as the autophagic flux was blocked, this change did not indicate that autophagy was activated. We speculated that the basal LC3-II induced by AMPK knockdown may be due to the failure of autophagolysosome clearance.

Inflammation is another significant feature of DKD. Cell injury caused by hyperglycemia activates the production of multiple proinflammatory cytokines, leading to the recruitment of inflammatory cells and functional abnormalities in DKD [5, 6]. Previous studies demonstrated that SGLT2 inhibitor decreased accumulation of nuclear NF- κ B p65 in db/db mice [7], high fat diet-fed Wistar rats [8] and HG-treated HK-2 cells [9], and then suppressed the downstream protein including TNF α and IL-1 β [8]. The release of IL-1 β is controlled by NLRP3 inflammasome activation [10-12]. NLRP3 activation may be involved in multiple inflammatory or stress pathways including NF- κ B signaling [11] and can be regulated by AMPK [13, 14]. Multiple studies have shown SGLT2 inhibition repressed NLRP3 inflammasome in different diabetic animal models [15-19]. Dapagliflozin suppressed the activation of the NLRP3/ASC inflammasome in diabetic myocardial tissues [17] reduced production of IL-1 β in the aortic tissues and liver [15, 16]. In the present study, we found that the increasing translocation of NF- κ B p65 from cytoplasm to nucleus is responsible for inflammation caused by HG and AMPK activation suppressed these changes. Our previous studies and other studies demonstrated that AMPK activation may inhibit the protein modification of NF- κ B p65 including phosphorylation [14, 20, 21] and acetylation via SIRT1 [22]. Our findings provided another potential mechanism of dapagliflozin on inflammation via AMPK/ NF- κ B p65/ NLRP3 signaling in human kidney proximal tubule cells.

6) 参考文献(References)

- [1] D. Garcia, R.J. Shaw, AMPK: Mechanisms of Cellular Energy Sensing and Restoration of Metabolic Balance, *Mol Cell*, 66 (2017) 789-800.
- [2] S.A. Hawley, R.J. Ford, B.K. Smith, G.J. Gowans, S.J. Mancini, R.D. Pitt, E.A. Day, I.P. Salt, G.R. Steinberg, D.G. Hardie, The Na⁺/Glucose Cotransporter Inhibitor Canagliflozin Activates AMPK by Inhibiting Mitochondrial Function and Increasing Cellular AMP Levels, *Diabetes*, 65 (2016) 2784-2794.
- [3] K. Jaikumkao, S. Promsan, L. Thongnak, M.T. Swe, M. Tapanya, K.T. Htun, S. Kothan, N. Intachai, A. Lungkaphin, Dapagliflozin ameliorates pancreatic injury and activates kidney autophagy by modulating the AMPK/mTOR signaling pathway in obese rats, *Journal of cellular physiology*, (2021).
- [4] Y.H. Lee, S.H. Kim, J.M. Kang, J.H. Heo, D.J. Kim, S.H. Park, M. Sung, J. Kim, J. Oh, D.H. Yang, S.H. Lee, S.Y. Lee, Empagliflozin attenuates diabetic tubulopathy by improving mitochondrial fragmentation and autophagy, *Am J Physiol Renal Physiol*, 317 (2019) F767-f780.
- [5] K. Matoba, Y. Takeda, Y. Nagai, D. Kawanami, K. Utsunomiya, R. Nishimura, Unraveling the Role of Inflammation in the Pathogenesis of Diabetic Kidney Disease, *International journal of molecular sciences*, 20 (2019).
- [6] R.E. Pérez-Morales, M.D. Del Pino, J.M. Valdivielso, A. Ortiz, C. Mora-Fernández, J.F. Navarro-González, Inflammation in Diabetic Kidney Disease, *Nephron*, 143 (2019) 12-16.
- [7] X.X. Wang, J. Levi, Y. Luo, K. Myakala, M. Herman-Edelstein, L. Qiu, D. Wang, Y. Peng, A. Grenz, S. Lucia, E. Dobrinskikh, V.D. D'Agati, H. Koepsell, J.B. Kopp, A.Z. Rosenberg, M. Levi, SGLT2 Protein Expression Is Increased in Human Diabetic Nephropathy: SGLT2 PROTEIN INHIBITION DECREASES RENAL LIPID ACCUMULATION, INFLAMMATION, AND THE DEVELOPMENT OF NEPHROPATHY IN DIABETIC MICE, *The Journal of biological chemistry*, 292 (2017) 5335-5348.
- [8] K. Jaikumkao, A. Pongchaidecha, N. Chueakula, L.O. Thongnak, K. Wanchai, V. Chatsudthipong, N. Chattipakorn, A. Lungkaphin, Dapagliflozin, a sodium-glucose co-transporter-2 inhibitor, slows the progression of renal complications through the suppression of renal inflammation, endoplasmic reticulum stress and apoptosis in prediabetic rats, *Diabetes, obesity & metabolism*, 20 (2018) 2617-2626.
- [9] D. Yao, S. Wang, M. Wang, W. Lu, Renoprotection of dapagliflozin in human renal proximal tubular cells via the inhibition of the high mobility group box 1-receptor for advanced glycation end products-nuclear factor- κ B signaling pathway, *Molecular medicine reports*, 18 (2018) 3625-3630.
- [10] H.L. Hutton, J.D. Ooi, S.R. Holdsworth, A.R. Kitching, The NLRP3 inflammasome in kidney disease and autoimmunity, *Nephrology (Carlton, Vic.)*, 21 (2016) 736-744.
- [11] Y.Y. Qiu, L.Q. Tang, Roles of the NLRP3 inflammasome in the pathogenesis of diabetic nephropathy, *Pharmacological research*, 114 (2016) 251-264.
- [12] J.K. Seok, H.C. Kang, Y.Y. Cho, H.S. Lee, J.Y. Lee, Regulation of the NLRP3 Inflammasome by Post-Translational Modifications and Small Molecules, *Frontiers in immunology*, 11 (2020) 618231.
- [13] M.D. Cordero, M.R. Williams, B. Ryffel, AMP-Activated Protein Kinase Regulation of the NLRP3 Inflammasome during Aging, *Trends Endocrinol Metab*, 29 (2018) 8-17.
- [14-22] are omitted.

2. 執筆論文 Publication of thesis ※記載した論文を添付してください。Attach all of the papers listed below.

論文名 1 Title	The impact of mitochondrial quality control by Sirtuins on the treatment of type 2 diabetes and diabetic kidney disease					
掲載誌名 Published journal	BBA – Molecular Basis of Disease					
	2020 年 3 月	1866 巻(号)	165756 頁 ~	頁	言語 Language	English
第1著者名 First author	Jing Xu	第2著者名 Second author	Munehiro Kitada	第3著者名 Third author	Daisuke Koya	
その他著者名 Other authors						
論文名 2 Title						
掲載誌名 Published journal						
	年 月	巻(号)	頁 ~	頁	言語 Language	
第1著者名 First author		第2著者名 Second author		第3著者名 Third author		
その他著者名 Other authors						
論文名 3 Title						
掲載誌名 Published journal						
	年 月	巻(号)	頁 ~	頁	言語 Language	
第1著者名 First author		第2著者名 Second author		第3著者名 Third author		
その他著者名 Other authors						
論文名 4 Title						
掲載誌名 Published journal						
	年 月	巻(号)	頁 ~	頁	言語 Language	
第1著者名 First author		第2著者名 Second author		第3著者名 Third author		
その他著者名 Other authors						
論文名 5 Title						
掲載誌名 Published journal						
	年 月	巻(号)	頁 ~	頁	言語 Language	
第1著者名 First author		第2著者名 Second author		第3著者名 Third author		
その他著者名 Other authors						

3. 学会発表 Conference presentation ※筆頭演者として総会・国際学会を含む主な学会で発表したものを記載してください。

※Describe your presentation as the principal presenter in major academic meetings including general meetings or international meeting

学会名 Conference	第35回日本糖尿病合併症学会			
演題 Topic	The role of SGLT2 inhibition on inflammation in the progression of diabetic kidney disease			
開催日 date	2020 年 12 月 7 日	開催地 venue	online	
形式 method	<input type="checkbox"/> 口頭発表 Oral	<input checked="" type="checkbox"/> ポスター発表 Poster	言語 Language	<input type="checkbox"/> 日本語 <input checked="" type="checkbox"/> 英語 <input type="checkbox"/> 中国語
共同演者名 Co-presenter	Munehiro Kitada, Yoshio Ogura, Itaru Monno, Daisuke Koya			
学会名 Conference				
演題 Topic				
開催日 date	年 月 日	開催地 venue		
形式 method	<input type="checkbox"/> 口頭発表 Oral	<input type="checkbox"/> ポスター発表 Poster	言語 Language	<input type="checkbox"/> 日本語 <input type="checkbox"/> 英語 <input type="checkbox"/> 中国語
共同演者名 Co-presenter				
学会名 Conference				
演題 Topic				
開催日 date	年 月 日	開催地 venue		
形式 method	<input type="checkbox"/> 口頭発表 Oral	<input type="checkbox"/> ポスター発表 Poster	言語 Language	<input type="checkbox"/> 日本語 <input type="checkbox"/> 英語 <input type="checkbox"/> 中国語
共同演者名 Co-presenter				
学会名 Conference				
演題 Topic				
開催日 date	年 月 日	開催地 venue		
形式 method	<input type="checkbox"/> 口頭発表 Oral	<input type="checkbox"/> ポスター発表 Poster	言語 Language	<input type="checkbox"/> 日本語 <input type="checkbox"/> 英語 <input type="checkbox"/> 中国語
共同演者名 Co-presenter				

4. 受賞(研究業績) Award (Research achievement)

名称 Award name	国名 Country		受賞年 Year of award	年 月
	国名 Country		受賞年 Year of award	年 月

5. 本研究テーマに関わる他の研究助成金受給 Other research grants concerned with your research

受給実績 Receipt record	<input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無
助成機関名称 Funding agency	
助成金名称 Grant name	
受給期間 Supported	年 月 ~ 年 月
受給額 Amount received	円
受給実績 Receipt record	<input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無
助成機関名称 Funding agency	
助成金名称 Grant name	
受給期間 Supported	年 月 ~ 年 月
受給額 Amount received	円

6. 他の奨学金受給 Another awarded scholarship

受給実績 Receipt record	<input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無
助成機関名称 Funding agency	
奨学金名称 Scholarship	
受給期間 Supported	年 月 ~ 年 月
受給額 Amount received	円

7. 研究活動に関する報道発表 Press release concerned with your research activities

※記載した記事を添付してください。 Attach a copy of the article described below

報道発表 Press release	<input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	発表年月日 Date of release	
発表機関 Released medium			
発表形式 Release method	・新聞 ・雑誌 ・Web site ・記者発表 ・その他 ()		
発表タイトル Released title			

8. 本研究テーマに関する特許出願予定 Patent application concerned with your research theme

出願予定 Scheduled	<input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	出願国 Application	
出願内容(概要) Application contents			

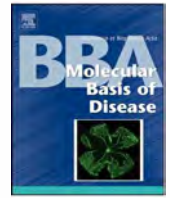
9. その他 Others

--

指導責任者(署名)

古家 広祐





Review

The impact of mitochondrial quality control by Sirtuins on the treatment of type 2 diabetes and diabetic kidney disease



Jing Xu^{a,c}, Munehiro Kitada^{a,b,*}, Daisuke Koya^{a,b}

^a Department of Diabetology and Endocrinology, Kanazawa Medical University, Uchinada, Japan

^b Division of Anticipatory Molecular Food Science and Technology, Medical Research Institute, Kanazawa Medical University, Uchinada, Japan

^c Department of Endocrinology and Metabolism, The Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, NO. 28, Guiyi Street, Guiyang, Guizhou 550004, China

ARTICLE INFO

Keywords:

Sirtuins
Mitochondria
Type 2 diabetes
Diabetic kidney disease

ABSTRACT

The incidence of type 2 diabetes mellitus (T2DM) and diabetic kidney disease (DKD) has significantly increased worldwide in recent decades, and improved treatments for T2DM and DKD are urgently needed. The pathogenesis of aging-related disorders, such as T2DM and DKD, involves multiple mechanisms, including inflammation, autophagy impairment, and oxidative stress, which are closely associated with mitochondrial dysfunction. Therefore, mitochondrial quality control may be a novel therapeutic target for T2DM and DKD. Previous reports have shown that members of the mammalian Sirtuin family, SIRT 1–7, which are recognized as antiaging molecules, play a crucial role in the regulation of mitochondrial function and quality control through the modulation of oxidative stress, inflammation and autophagy. In this review, we summarized the research published in recent years to highlight the role of Sirtuins in mitochondrial quality control as a therapeutic target for T2DM and DKD.

Abbreviations: T2DM, type 2 diabetes mellitus; DKD, diabetic kidney disease; AKI, acute kidney injury; sir2, silent information regulator 2; SIRT, Sirtuins; HFD, high-fat diet; CR, calorie restriction; RSV, resveratrol; ZDRs, Zucker diabetic rats; WFRs, Wistar fatty rats; HUVECs, human umbilical vein endothelial cells; MEF, murine embryonic fibroblasts; hESCs, human embryonic stem cells; EPCs, endothelial progenitor cells; eGFR, estimated glomerular filtration rate; TCA, citric acid cycle; AMPK, AMP activated kinase; p-AMPK, phosphorylated-AMP activated kinase; CaMKK β , Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase kinase β ; ERK, extracellular signal-regulated kinase; CPS1, carbamoyl phosphate synthetase 1; ECHA, trifunctional enzyme subunit alpha; HMGCS2, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase 2; PI3K, phosphoinositide 3-kinase; MCD, malonyl-CoA decarboxylase; PKM2, pyruvate kinase isozyme M2; G6PD, glucose-6-phosphate dehydrogenase; AceCS2, acetyl-CoA synthetase 2; GDH, glutamate dehydrogenase; SDH, succinate dehydrogenase; LDH, lactate dehydrogenase; TPI, triose phosphate isomerase; PFK1, aldolase, and phosphofructokinase-1; PEPCK, phosphoenolpyruvate carboxykinase; SDHA, succinate dehydrogenase subunit A, flavoprotein; IDH2, isocitrate dehydrogenase 2; LCAT, lecithin cholesterol acyltransferase; MCAD, medium-chain acyl-CoA dehydrogenase; VLCAD, very-long-chain acyl-CoA dehydrogenase; CPT1, carnitine palmitoyltransferase; MTCO2, mitochondrially encoded cytochrome C oxidase II; GAPDH, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; PKA, protein kinase A; PKB, protein kinase B; PINK1, PTEN induced putative kinase 1; GLUT1, glucose transporter 1; HIF1 α , hypoxia inducible factor1 α ; PDC, pyruvate dehydrogenase complex; GCN5, nonrepressed protein 5; NAD⁺, nicotinamide adenine dinucleotide; ATP, adenosine triphosphate; Mfn1/2, mitofusion1/2; OPA1, optic atrophy 1; Drp1, dynamin-related protein 1; PGC-1 α , peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 α ; TFAM, mitochondrial transcription factor A; ETC, subunit of electron transport chain; ANT2, adenine nucleotide translocator2; GABP1, GA-binding protein; PFS^{mt}, mitochondrial protein folding stress; AdipoR1, adiponectin receptor 1; PPAR α , peroxisome proliferator-activated receptor α ; ROS, reactive oxygen species; SOD1, superoxide dismutase 1; SOD2, superoxide dismutase 2; MnSOD, manganese superoxide dismutase; OXPHOS, oxidative phosphorylation; Prx3, peroxiredoxins 3; Prx5, peroxiredoxins 5; Trx2, thioredoxin 2; TR2, thioredoxin reductase 2; UCP-2, uncoupling protein 2; FOXO, forkhead box O; Ace-FOXO1, acetylated-forkhead box O 1; Nrf2, NF-E2-related factor 2; ARE, antioxidant response element; NF- κ B, nuclear factor- κ B; TNF- α , tumor necrosis factor- α ; IL-1 β , interleukin-1 β ; IL-6, interleukin-6; MCP-1, monocyte chemoattractant protein 1; ICAM-1, intercellular adhesion molecule-1; VCAM-1, vascular cell adhesion molecule-1; TLR, Toll-like receptor; AGEs, advanced glycation end products; EMT, epithelial-mesenchymal transition; TGF β , transforming growth factor β ; STAT3, signal transducer and activator of transcription 3; HO-1, heme oxygenase-1; p66Shc, 66-kDa Src homology 2 domain-containing protein; LC3, microtubule-associated protein light chain 3; Atg5/7, autophagy related 5/7; mTORC1, rapamycin complex 1; BNIP3, BCL2/adenovirus E1B 19 kDa protein-interacting protein 3; PARK2, parkin 2; MCCC, methylcrotonyl-CoA carboxylase complex; Acyl-MCCC, acylated-methylcrotonyl-CoA carboxylase complex; PDX1, pancreatic and duodenal homeobox 1; ERR, estrogen-related receptor; RNAP II, RNA polymerase II; IGF-1, insulin like growth factor-1; eNOS, nitric oxide synthase

* Corresponding author at: Department of Diabetology and Endocrinology, Kanazawa Medical University, 1-1 Daigaku, Uchinada, Kahoku, Ishikawa 920-0293, Japan.

E-mail address: kitta@kanazawa-med.ac.jp (M. Kitada).

<https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165756>

Received 30 October 2019; Received in revised form 23 January 2020; Accepted 28 February 2020

Available online 05 March 2020

0925-4439/ © 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

The prevalence of type 2 diabetes mellitus (T2DM) has been gradually increasing worldwide in recent decades [1]. Between 2001 and 2009, the prevalence of T2DM increased from 3.4% to 4.6% in the United State [2] and from 9.3% in 2010 to 10.9% in 2013 in China [3]. Accompanying with the increasing prevalence, the incidence of its chronic complications, such as diabetic kidney disease (DKD) also increased (from 19.5% in 2010 to 24.3% in 2015 in China) [4]. DKD is considered as the main cause of end-stage renal diseases and an independent risk factor for cardiovascular diseases [5]. All of these disorders bring an enormous burden to the healthcare system worldwide. Although several new drugs such as SGLT2 inhibitors or GLP-1 agonist have been developed to treat T2DM and presented prospective outcomes in recent years [6–11], there is still an urgent need for more effective therapies for T2DM and DKD.

Aging is an inevitable and universal process. It increases oxidative stress and inflammation caused by mitochondrial dysfunction and weakens the responsiveness to intracellular stress, ultimately leads to metabolic dysfunction and the disruption of cellular homeostasis [12]. Inflammation is also considered an important role in the pathogenesis of aging-related diseases [13]. Nuclear factor kappa-B (NF-κB) is the central transcriptional factor involved in inflammation, and it mediates the expression of multiple inflammatory factors, including tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-1β (IL-1β) and interleukin-6 (IL-6), [14]. Aging and cellular senescence may accelerate the progression of T2DM and DKD [12], associating with inflammation and mitochondrial dysfunction [15–17]. Therefore, mitochondrial quality control might be a potential target for the treatment of age-related diseases such as T2DM and DKD.

Mitochondrial quality control involves a variety of mechanisms, among which the regulation by Sirtuins is a highlighted direction. The Sirtuin family contains highly conserved nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺)-dependent histone/protein deacetylases and ADP-ribosyltransferases [18,19]. Sirtuins (SIRT1–7) are recognized as

antiaging molecules and have been confirmed to participate in multiple cellular processes including the regulation of mitochondrial function, oxidative stress, inflammation and autophagy [20], which is correspondingly related to the pathogenesis of T2DM and DKD.

In this review, we summarized studies published in recent years to highlight the role of Sirtuins in mitochondrial quality control related to the improvement of mitochondrial function/biogenesis/fission and fusion balance, anti-oxidative stress/inflammation and induction of autophagy as a therapeutic target for T2DM and DKD.

2. Mitochondrial dysfunction on the pathogenesis of T2DM and DKD

Mitochondrial dysfunction has been identified to be linked to the pathogenesis of T2DM and DKD. Clinical studies have shown that T2DM patients have fewer mitochondria, lower mitochondrial density and adenosine triphosphate (ATP) production than normal individuals [21,22]. Additionally, a previous study reported that glycolytic enzymes including pyruvate kinase M2 (PKM2) and mitochondrial enzymes including mitochondrially encoded cytochrome C oxidase II (MTCO2) are significantly elevated in glomeruli from individuals with extreme duration of type 1 diabetes (≥50 years) without diabetic nephropathy compared to those with histologic signs of diabetic nephropathy [23]. Moreover, in T2DM patients, these enzymes including PKM2 and MTCO2 are significantly increased in glomeruli of CKD⁻ individuals, compared to CKD⁺ individuals [24]. These data indicate that maintaining mitochondrial function or mitochondrial quality control in the kidney is important for protecting against DKD.

Mitochondrial quality control in cells mainly involves the regulation of redox status, fusion and fission procedures, autophagy/mitophagy and biomolecular repair/biogenesis [15]. The disruption of either of these quality control pathways is a major cause of mitochondrial dysfunction and leads to oxidative stress, inflammation, contributes to the pathogenesis of mitochondrial-related diseases, ranging from inherited diseases to age-related disorders, T2DM and its complications including

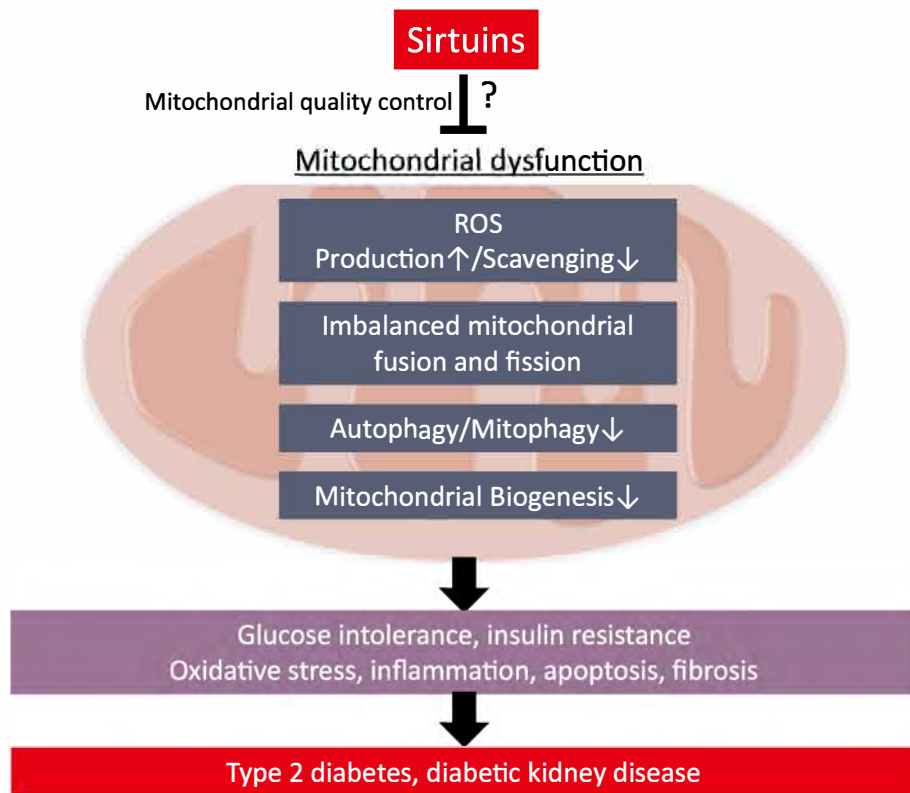


Fig. 1. Mitochondrial dysfunction includes imbalance between reactive oxide species (ROS) production and scavenging, imbalanced fusion and fission, impaired autophagy/mitophagy and reduced mitochondrial biogenesis, which contribute to the pathogenesis for type 2 diabetes and diabetic kidney disease through glucose intolerance, insulin resistance, oxidative stress, inflammation, excess apoptosis and fibrosis in diabetic kidney. Sirtuins may be a potential target for the treatment of these diseases through mitochondrial quality control.

DKD [25,26] (Fig. 1).

2.1. Redox status in mitochondrial

Mitochondria are main source of reactive oxygen species (ROS) [27], and mitochondrial ROS is scavenged by antioxidant enzymes such as superoxide dismutase 2 (SOD2), known as a manganese superoxide dismutase (MnSOD), [28]. Therefore, mitochondrial dysfunction results in the enhancement of oxidative stress by increased production of ROS from injured mitochondria and impairment of SOD2. In diabetic state, mitochondria exhibit increased production of ROS due to impaired electron transport and ROS scavenging, then contribute to the pathogenesis of insulin resistance/diabetes and DKD [16,17,29] (Fig. 1). Additionally, oxidative stress is closely related to inflammation, therefore, mitochondrial quality control is also important for suppression of both oxidative stress and inflammation.

2.2. Balance of fusion and fission

Fusion and fission are crucial to maintaining mitochondrial stability and biological function [15]. The expression of mitochondrial fusion protein (mitofusion2; Mfn2 and optic atrophy1; Opa1) is reduced in skeletal muscles of patients with T2DM [30]. Our previous studies found that mitochondria fusion proteins such as Mfn1/2 and Opa1 in the kidney are inhibited by a high-fat diet (HFD) [31], and fission proteins such as dynamin-related protein 1 (Drp1) are increased in renal cortex of Zucker diabetic rats (ZDRs), a T2DM rat model [32]. Other report demonstrated that a deficiency in Mfn2 leads to increased superoxide and the activation of NF- κ B, leading to insulin resistance in rat skeletal muscle cells [33].

2.3. Autophagy and mitophagy

Mitophagy is a selective autophagy that recognizes damaged mitochondria for degradation through fission of mitochondria [34]. Starvation is well known to activate autophagy, while starvation leads to inhibition of mitochondrial fission through protein kinase A (PKA)-induced phosphorylation of Drp1, then results in mitochondrial elongation [35]. Multiple studies have identified the key role of autophagy in the pathogenesis of T2DM and its chronic complications, such as DKD [36,37]. Our previous study also observed that the accumulation of p62/Sqstm1 and abnormal mitochondria are significantly enhanced in the kidneys of Wistar fatty rats (WFRs), a rat model of T2DM, indicating dysregulation of autophagy [38,39]. Thus, regulation of mitochondrial fission/fusion balance and autophagy/mitophagy play a crucial role on mitochondrial quality control to improve T2DM and DKD (Fig. 1).

3. Mammalian Sirtuins family

Sirtuins are derived from silent information regulator 2 (sir2) in research on the cause of aging in yeast [18,19]. Sirtuins are highly conserved from bacteria to mammals. Seven human Sirtuin genes (SIRT1–7) have been identified and divided into four phylogenetic classes, known as classes I–IV [40]. Table 1 lists the Sirtuin family members and their characteristics.

3.1. SIRT1

SIRT1 is the most widely studied member of the Sirtuin family. SIRT1 is mainly located in the nucleus and shuttles between the nucleus and cytoplasm under physiological and pathological stress [41]. SIRT1 deacetylates histone, such as H4 lysine 16 (H4-K16Ac), H3 lysine 9 (H3-K9Ac), and H1 lysine 26 (H1-K26Ac) and regulates the activity of multiple transcription factors and proteins via deacetylation, which involves mitochondrial biogenesis, redox homeostasis, inflammation

Table 1
Sirtuins family and their characteristics.

Sirtuins	Classification	Enzyme activity	Location
SIRT1	I	Deacetylase	Nucleus and cytoplasm
SIRT2	I	Deacetylase	Cytoplasm and nucleus
SIRT3	I	Demyristoylase	Mitochondria and cytoplasm
SIRT4	II	ADP-ribosyltransferase	Mitochondria
SIRT5	III	Deacetylase Lipoamidase Desuccinylase Demalonylase	Mitochondria
SIRT6	IV	Deacetylase	Nucleus and endoplasmic reticulum
SIRT7	IV	ADP-ribosyltransferase Deacetylase	Nucleus and cytoplasm

and autophagy [40,42] (Fig. 2).

3.1.1. Role in mitochondrial biogenesis and oxidative stress

Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 α (PGC-1 α) is a key transcriptional coactivator that regulates mitochondrial biogenesis, mitochondrial respiration and redox status through the induction of the oxidative phosphorylation (OXPHOS) genes expression and anti-oxidative enzymes [43,44]. SIRT1 deacetylates PGC-1 α to increase mitochondrial biogenesis and mitochondrial fatty acid oxidation in myotubes [45]. Calorie restriction (CR) or fasting can induce PGC-1 α deacetylation via SIRT1, which leads to increased mitochondrial biogenesis and the activation of mitochondrial fatty acid oxidation genes in skeletal muscle or white adipose tissue [45]. As a key regulator of nutrient and energy expenditure, AMP-activated kinase (AMPK) enhances SIRT1 activity by increasing cellular NAD⁺ levels, resulting in the deacetylation and modulation of the activity of downstream SIRT1 targets [46,47]. Adiponectin, which is an antidiabetic hormone that maintains glucose and fatty acid metabolism, combines with adiponectin receptor 1 (AdipoR1) to induce the expression and activation of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase kinase β (CaMKK β), AMPK, and SIRT1 and to decrease the acetylation of PGC-1 α in a Ca²⁺-dependent manner to regulate mitochondrial biogenesis, which further relieves insulin resistance in skeletal muscle [48]. Additionally, SIRT1 activates peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α), a major regulator of lipid metabolism, via PGC-1 α deacetylation to enhance fatty acid oxidation in skeletal muscle [45,48]. Increased PGC-1 α activity and expression increases the expression of ROS-detoxifying enzymes, such as SOD2 [44]. SIRT1 regulates the expression of several antioxidant genes in bovine aortic endothelial cells, including SOD2, catalase, peroxiredoxins 3 and 5 (Prx3, Prx5), thioredoxin 2 (Trx2), thioredoxin reductase 2 (TR2), and uncoupling protein 2 (UCP-2) through the formation of a FOXO3a/PGC-1 α complex [49]. The beneficial effects of SIRT1 on diabetic renal injuries correlate with the activation of the nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 (Nrf2) and antioxidant response element (ARE) (Nrf2/ARE) antioxidative pathway, which leads to overexpression of antioxidative enzymes such as heme oxygenase-1 (HO-1) and superoxide dismutase 1 (SOD1) [50]. Additionally, advanced glycation end products (AGEs) are one of the main causes of DKD. The activation of the Nrf2-ARE pathway by the overexpression of SIRT1 ameliorates mitochondrial oxidative stress, further relieving the toxicity of high glucose to podocytes in db/db mice [51] (Fig. 2A). Epithelial-mesenchymal transition (EMT) plays a pivotal role in the pathogenesis of renal tubulointerstitial fibrosis, which is closely related to the pathogenesis for progression of DKD. Previous report demonstrated that aldosterone-induced EMT is dependent on mitochondrial-derived oxidative stress, and SIRT1 restores aldosterone-induced mitochondrial dysfunction and EMT by upregulating PGC-1 α [52]. The 66-kDa Src homology 2 domain-containing protein (p66Shc) is phosphorylated at serine 36 (S36) in response to ROS and

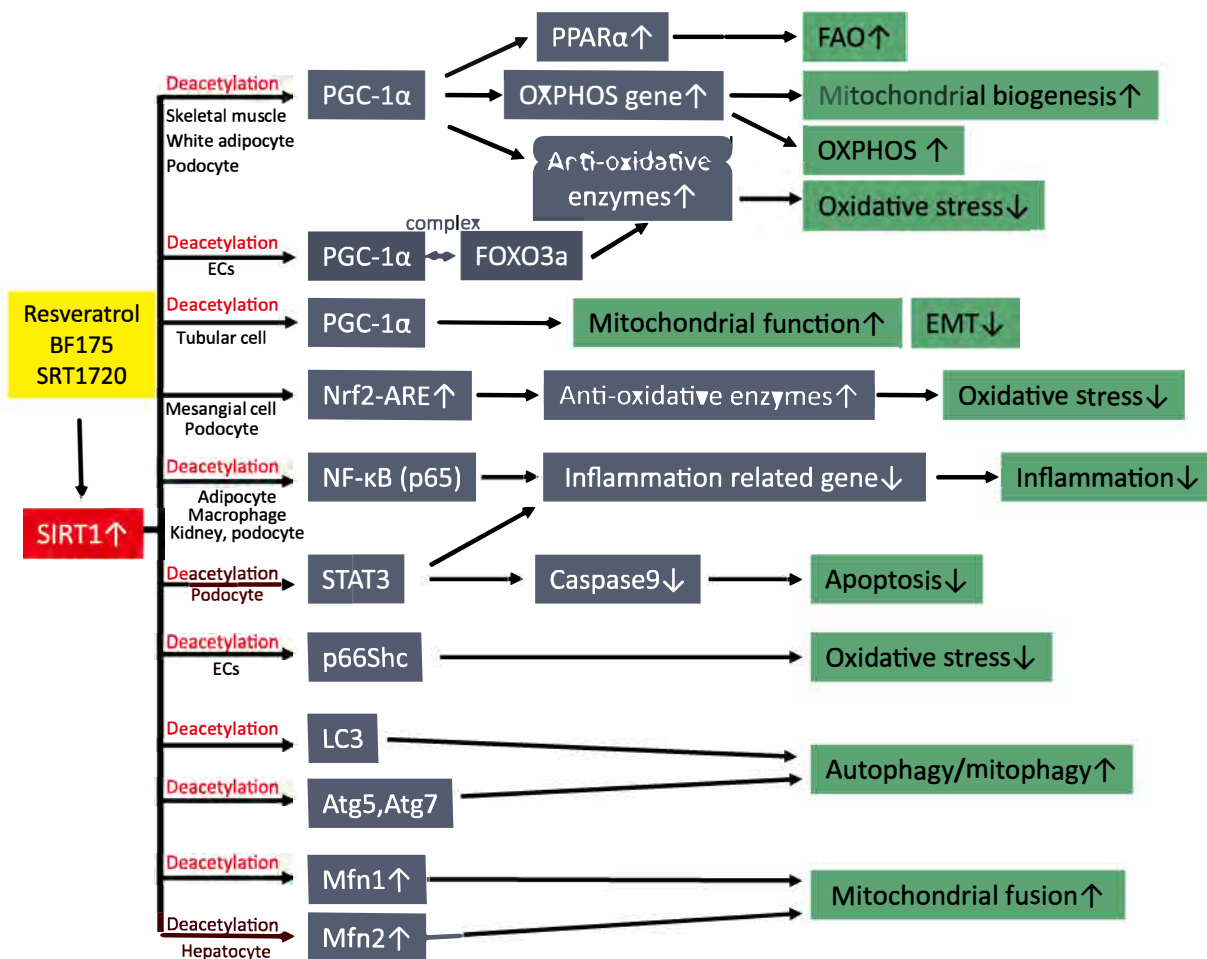


Fig. 2. SIRT1 regulates mitochondrial function related to fatty acid oxidation (FAO), mitochondrial biogenesis, oxidative phosphorylation (OXPHOS), oxidative stress, inflammation, epithelial-mesenchymal transition (EMT), apoptosis, autophagy/mitophagy and mitochondrial fusion, through the multiple mechanism.

translocates to mitochondria, where it produces ROS by oxidizing cytochrome C [53]. SIRT1-mediated deacetylation of p66Shc suppresses vascular oxidative stress and endothelial dysfunction in diabetes [54].

3.1.2. Role in inflammation

Previous studies have demonstrated that SIRT1 deacetylates the RelA/p65 subunit of NF- κ B at Lys310 to inhibit its transcription [55]. The activation of SIRT1 inhibits inflammatory pathway through deacetylation of NF- κ B (p65) in adipocytes and macrophages to improve glucose tolerance and insulin sensitivity [56,57]. Our previous research also demonstrated that in the proximal tubular cells of WFRs, the expression of inflammation-related genes such as monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) and the acetylated-NF- κ B (p65) increased, while CR can alleviate the expression of inflammatory factors by elevating levels of SIRT1, further deacetylating NF- κ B [38]. In the podocytes of db/db mice, the deletion of SIRT1 leads to the acetylation of NF- κ B (p65) and signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3), which results in increased susceptibility to diabetic renal injuries, including inflammation and apoptosis [58] (Fig. 2B).

3.1.3. Role in autophagy

Impaired autophagy is involved in the development of a variety of aging-related diseases [59], especially T2DM and DKD [36]. SIRT1 is considered to be a positive regulator of autophagy, which can deacetylate essential autophagic factors, such as autophagy-related 5 (Atg5),

Atg7 and microtubule-associated protein light chain 3 (LC3), leading to the induction of autophagy [60,61]. We previously reported that dietary restriction can ameliorate the impaired autophagy in the kidney of WFRs and can restore SIRT1 levels and degrade p62/Sqstm1 [38]. In addition to the deacetylation effect, the inactivation of SIRT1 also results in the phosphorylation of NF- κ B p65, leading to inflammation, the activation of the mechanistic target of rapamycin complex 1 (mTORC1) pathway and the inhibition of AMPK in cultured human monocytes. These results connect autophagy and inflammation together [38]. SIRT1 deacetylates mitochondrial fusion-related proteins, results in mitochondrial quality control. A research reported that SIRT1 deacetylates Mfn1 and up-regulates Mfn1 protein stability, leading to mitochondrial elongation [62]. Additionally, SIRT1 deacetylates Mfn2, leading sequentially to enhancement of autophagy, maintaining mitochondrial quality and cell survival in hepatocytes [63].

3.2. SIRT2

SIRT2 is widely distributed in various tissues and organs and is especially highly expressed in metabolic-related organs such as brain, liver, muscle, adipose, kidney, and pancreas [64]. SIRT2 is located primarily in the cytoplasm and can also be found in the nucleus when cells are in the G2/M transition of the cell cycle and during mitosis [65]. SIRT2 functions mainly as an NAD⁺-dependent histone deacetylase [66] and demyristoylase [67]. It is related to multiple processes, including energy metabolism, inflammation, oxidative stress, mitochondrial function, autophagy, and metabolic process including

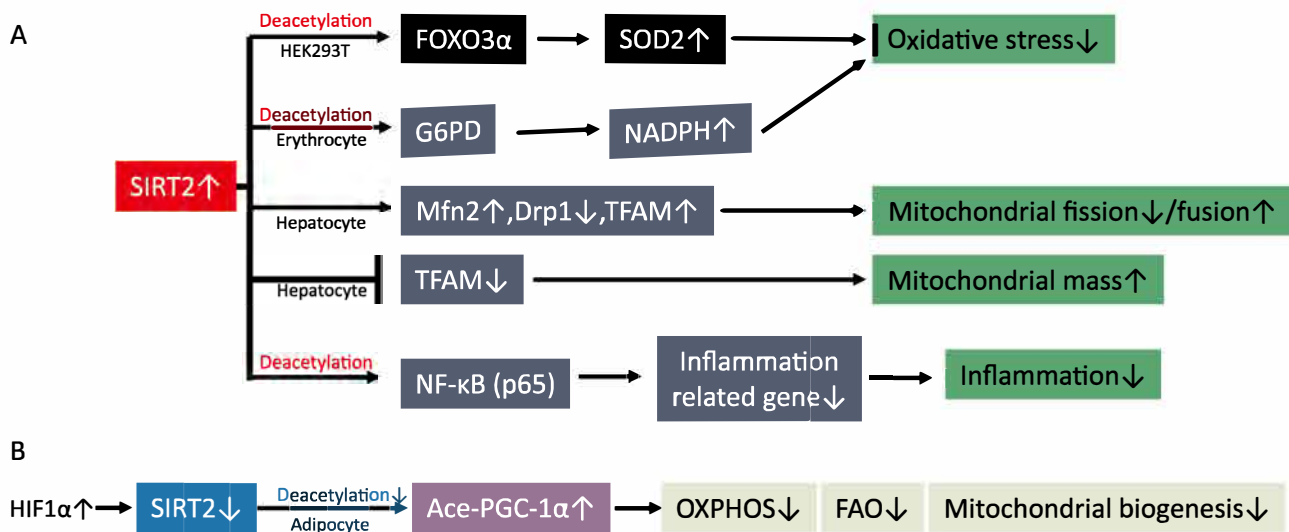


Fig. 3. (A) SIRT2 regulates mitochondrial function related to oxidative stress, inflammation, mitochondrial biogenesis and mitochondrial fission/fusion balance, the multiple mechanism. (B) In adipose tissue, SIRT2 dysfunction due to HIF1 α induces increased acetylated PGC-1 α , resulting in mitochondrial dysfunction including reduction of fatty acid oxidation (FAO), oxidative phosphorylation (OXPHOS) and mitochondrial biogenesis. In cancer cells, inactivation of SIRT2 induces increased acetylated FOXO1 in cytosol, which binds to Atg7, resulting in induction of autophagy.

T2DM and DKD [64] (Fig. 3). Several studies have shown that SIRT2 is suppressed when energy is excessive and activated when energy is insufficient, indicating that SIRT2 is closely related to intracellular energy utilization. SIRT2 knockout mice exhibit reduced muscle insulin sensitivity, increased liver insulin resistance and increased body weight under HFD conditions [68], indicating that SIRT2 protects against insulin resistance under overnutrition conditions.

3.2.1. Role in mitochondrial biogenesis and oxidative stress

SIRT2 is closely related to improving oxidative stress and reducing the production of ROS in the development of the pathological mechanisms of insulin resistance and T2DM. SIRT2 deacetylates and activates FOXO3 α , then activates the transcription of SOD2, thereby further increases intracellular mitochondria-localized SOD2 antioxidant protein levels, reduces ROS production and improving oxidative stress in HEK 293 T cells [69]. Under oxidative stress, SIRT2 deacetylates and activates glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD), a key enzyme involved in pentose phosphate pathway, which increases the production of NADPH to counteract oxidative stress in erythrocytes [70]. In the above mentioned effects of SIRT2 against oxidative stress, its regulation of mitochondrial quality may play a crucial role. In hepatocytes, SIRT2 increases Mfn2, decreases Drp1 and attenuates the down-regulation of mitochondrial transcription factor A (TFAM), a key mtDNA-associated protein, to increase mitochondrial mass, contributing to the improvement of insulin sensitivity [71]. In adipocytes, the hypoxia induced by excess energy causes hypoxia inducible factor 1 α (HIF1 α) accumulation, which inhibits SIRT2 activity. HIF1 α -induced reduction of SIRT2 activity decreases PGC-1 α transcriptional activity by increased its acetylation, which results in decrease of the expression of mitochondrial genes, thereby hindering the catabolism of fatty acids in mitochondria [72].

3.2.2. Role in inflammation

SIRT2 has some similar functions to SIRT1, such as negatively regulating NF- κ B-dependent gene expression by deacetylating p65 Lys 310 [73], and has been shown to participate in the pathogenesis of multiple diseases such as colitis and arthritis by regulating the inflammatory pathway [74,75]. Nevertheless, no study has clearly shown whether SIRT2 participates in the pathological development of T2DM and DKD through the inflammatory pathway.

3.2.3. Role in autophagy

SIRT2 is also involved in the autophagy process. Unlike SIRT1 interacts with FOXO1 in the nucleus, SIRT2 deacetylates acetylated FOXO1 in the cytoplasm. Reduction of SIRT2 activity inhibits the deacetylation of FOXO1, and acetylated FOXO1 interact with Atg7 in the cytosol and induce autophagy in cancer cells [76].

3.3. SIRT3

SIRT3 is mainly located in mitochondria, acting as a NAD⁺-dependent deacetylase to regulate mitochondrial protein deacetylation [77] and energy homeostasis [78]. Through its deacetylation effects, SIRT3 is involved in the development of metabolic diseases including T2DM and DKD [79] (Fig. 4). Clinical studies have revealed that SIRT3 activity is decreased in skeletal muscle and pancreatic islets [80] in diabetic patients and that high SIRT3 expression levels are associated with longevity [81]. SIRT3 knockout mice show decreased oxygen consumption, reduced glucose-stimulated insulin secretion, elevated acetylation of mitochondrial proteins and increased oxidative stress [80,82,83].

3.3.1. Role in mitochondrial biogenesis and oxidative stress

SIRT3 deacetylates acetyl-CoA synthetase 2 (AceCS2), an important rate-limiting enzyme in the citric acid cycle to participate in glycolysis, and deacetylates glutamate dehydrogenase (GDH), which is responsible for amino acid oxidation in the citric acid cycle [84]. SIRT3 also deacetylates long-chain acyl-CoA dehydrogenase (LCAD), a key enzyme in fatty acid oxidation, resulting in the activation of fatty acid metabolism [85]. SIRT3 is essential for the maintenance of basal ATP levels and mitochondrial electron transport. It deacetylates complex I and complex II, especially the succinate dehydrogenase flavoprotein (SDHA) subunit of electron transport chain (ETC), to increase their activity, further elevating mitochondrial oxidative phosphorylation [82,86,87]. The overexpression of SIRT3 deacetylates ATP synthase and further increases ATP levels [82,86,87].

SIRT3 has been shown to play a central role against mitochondrial oxidative stress through the deacetylation and activation of antioxidant enzymes such as isocitrate dehydrogenase 2 (IDH2) and SOD2 [88–90]. Our previous report also demonstrated that the expression of acetylated-SOD2 and -IDH2 was significantly increased in mitochondria isolated from renal cortex of ZDRs, compared to Zucker lean diabetic

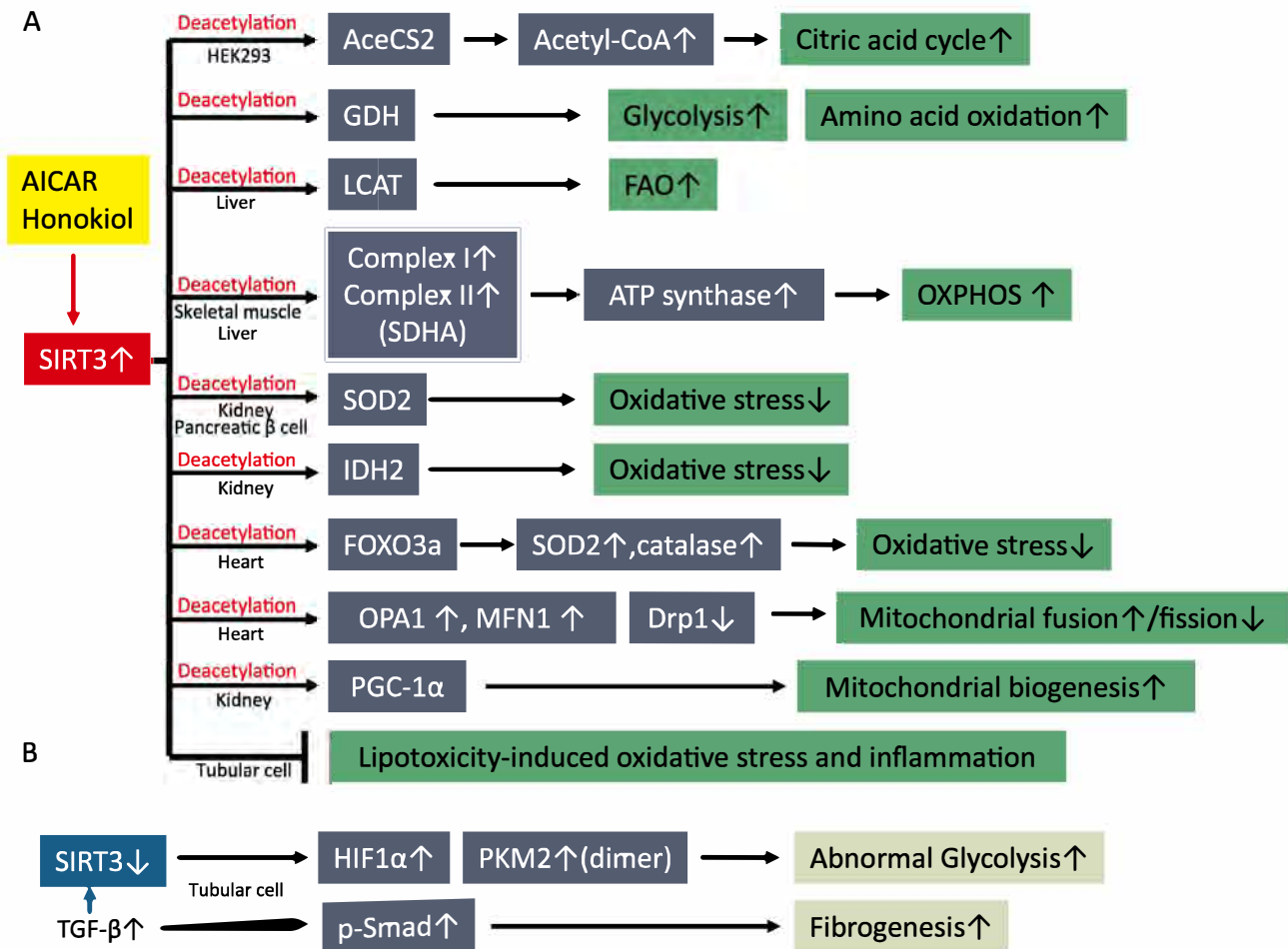


Fig. 4. (A) SIRT3 regulates mitochondrial function related to fatty acid oxidation (FAO), mitochondrial biogenesis, oxidative phosphorylation (OXPHOS), oxidative stress, inflammation, autophagy/mitophagy, and mitochondrial fusion, the multiple mechanism. SIRT3 also participates in cellular metabolism including citric acid cycle, glycolysis, acid oxidation. (B) SIRT3 suppression is associated with abnormal glycolysis and fibrogenesis through HIF1 α accumulation, Pyruvate kinase M2 (PKM2)(dimer) formation and TGF- β /smad pathway.

rats, which is associated with SIRT3 inactivation in diabetic kidney [32]. Additionally, SIRT3 inhibition increases the acetylation of both SOD2 and p53 protein to aggravate oxidative stress in an acute kidney injury (AKI) rat model [91]. Primary pancreatic islets of SIRT3 knockout mice and pancreatic β cell lines (MIN6) exhibit decreased SIRT3 expression and increased SOD2 acetylation, leading to impaired glucose-stimulated insulin secretion and glucose-stimulated ATP generation, associated with oxidative stress [83]. In addition to the direct deacetylation of SOD2, SIRT3 upregulates the expression SOD2 and catalase by deacetylating FOXO3 α to increase its transcriptional activity [92].

SIRT3 is related to mitochondrial fusion and fission processes. Previous research demonstrated that SIRT3 deacetylates and activates mitochondrial fusion proteins such as OPA1 at the lysine 926 and 931 residues and elevates its GTPase activity to regulate mitochondrial dynamics and further protects cardiomyocytes from stress [93]. The AMPK activator, 5-aminoimidazole-4- carboxamide-1- β -D-ribofuranoside (AICAR) can reduce cisplatin-induced AKI and improve renal function via the deacetylase activity of SIRT3. SIRT3 deficiency exacerbates AKI accompanied by the increased expression of Drp1 and the decreased expression of OPA1 and PGC-1 α , which leads to a shift in mitochondria dynamics toward fission [94].

3.3.2. Role in inflammation

Currently, there are limited reports on SIRT3 and inflammation. In a rat insulinoma Cell line (INS1 cells), SIRT3 knockdown results in not

only impaired insulin secretion but also impaired protective effects of nicotinamide mononucleotide on inflammatory cytokines, such as TNF- α and IL-1 β [83]. Another research showed that AGEs decrease SIRT3 expression in endothelial progenitor cells (EPCs) and increase IL-8, which may be involved in the pathogenesis of diabetes-related vascular complications [95]. Additionally, SIRT3 ameliorates lipotoxicity-mediated ROS and inflammation in renal proximal tubular cells [96]. Furthermore, our previous study showed that SIRT3 suppression associated activation of transforming growth factor β (TGF β)/Smad signaling and renal fibrosis through induction of abnormal glycolysis by modulating the HIF1 α accumulation and increase PKM2 dimer formation, leading to abnormal glycolysis and, ultimately, diabetes-associated kidney fibrosis [97].

3.3.3. Role in autophagy

The relationship between SIRT3 and autophagy in different tissues and organs shows different results. Under HFD condition, SIRT3 overexpression causes AMPK inhibition and mTORC1 activation, resulting in autophagy suppression in hepatocytes [98]. However, SIRT3 overexpression can upregulate p-AMPK and downregulate p-mTOR to promote autophagy in AKI model mice [99].

3.4. SIRT4

SIRT4 is considered to be a mitochondrial protein located in the mitochondrial matrix and is widely expressed in multiple organs and

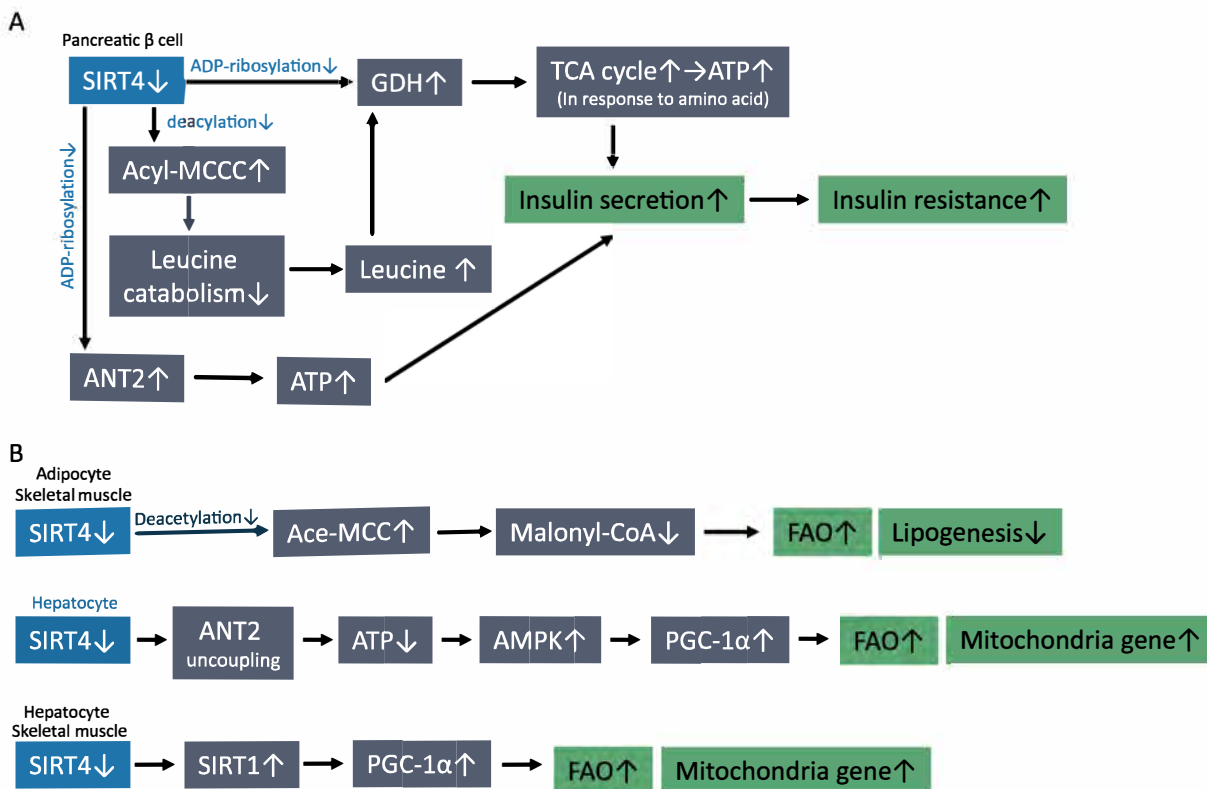


Fig. 5. (A) SIRT4 suppression positively regulates insulin secretion from pancreatic β cell, and chronic elevated insulin secretion progresses insulin resistance. (B) SIRT4 suppression induces the increased fatty acid oxidation (FAO) and mitochondrial gene expression, and reduction of lipogenesis.

tissues of mammals including liver, muscle and kidney [100]. SIRT4 is characterized as a NAD^+ -dependent ADP-ribosylase, deacylase and acylase, and is involved in the regulation of metabolism and mitochondrial function [101] (Fig. 5). Previous reports showed that SIRT4 in mitochondria is related to the regulation of insulin secretion from β cell and glucose tolerance. Pancreatic β cells in SIRT4 deficient mice exhibits promotion of insulin secretion, which is associated with GDH activation [101]. GDH catalyzes the conversion of glutamate to α -ketoglutarate, an intermediate of the citric acid cycle (TCA) cycle. Through the utilization of glutamate and the increasing of mitochondrial ATP production, GDH is activated to promote insulin secretion, while SIRT4 suppresses GDH activity by its ADP-ribosylation, resulting in the downregulation of insulin secretion [101]. In SIRT4-depleted INS-1E cells, insulin secretion is markedly increased under high glucose conditions. SIRT4 catalyzes the ADP-ribosylation of adenine nucleotide translocator2 (ANT2), an ATP/ADP translocase that transports ATP into the cytosol and ADP into the mitochondrial matrix, to reduce ATP production, then negatively regulates insulin secretion [102]. Additionally, SIRT4-deficient mice exhibit the elevated basal and stimulated insulin secretion through leucine-induced GDH activation, leading to develop age-related glucose intolerance and insulin resistance [103]. The absence of SIRT4 increases and destabilizes methylcrotonyl-CoA carboxylase complex (MCCC) acylation, leading to decreased leucine oxidation.

3.4.1. Role in mitochondrial biogenesis

SIRT4 may exhibit the opposite functions by decreasing mitochondrial function including fatty acid oxidation, compared to SIRT3. During the fed state, SIRT4 inhibits the activity of malonyl-CoA decarboxylase (MCD) through deacetylation of its enzyme, resulting in an increase in malonyl-CoA. Increased malonyl-CoA promotes lipid synthesis and suppresses fatty acid oxidation by inhibition of carnitine palmitoyltransferase (CPT1), in white adipose tissue and skeletal

muscle of mice [104]. In contrast, the loss of SIRT4 can activate AMPK via ANT2 uncoupling with SIRT4 to decrease ATP levels in insulin-producing INS-1E cells [105]. Activated AMPK leads to increased PGC-1 α expression, resulting in fatty acid oxidation and mitochondrial genes. Another study confirmed that SIRT4 knockdown in primary mice hepatocytes increases the expression of fatty acid oxidation-related genes such as medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD), CPT1 and PPAR α , and mitochondrial genes including PGC-1 α . SIRT4-mediated these effects were dependent on SIRT1 [106]. The mRNA levels of hepatic SIRT4 were significantly increased in ob/ob, db/db, and KKAY mice, which have obesity, diabetes and hepatic steatosis [106]. In primary myotubes, SIRT4 knockdown resulted in the increased fatty acid oxidation and cellular oxygen consumption [106].

3.4.2. Role in inflammation

To date, a few studies have confirmed that SIRT4 is involved in the inflammatory pathway and oxidative stress. In human umbilical vein endothelial cells (HUVECs), silencing SIRT4 exacerbates the expression of IL-1 β , IL-6 and IL-8, while increasing the nuclear translocation and the transcriptional activity of NF- κ B [107]. Further research confirmed that SIRT4 overexpression suppresses the Phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/Akt/NF- κ B pathway and improves oxidized LDL-induced endothelial injury in HUVECs [108]. SIRT4 reverses high glucose-induced decreases in mitochondrial membrane potential and decreases ROS accumulation and inflammation in mouse cultured podocytes [109]. Additionally, a clinical study showed that compared with healthy individuals, T2DM patients have much lower SIRT4 mRNA levels in granulocytes and monocytes [110].

3.5. SIRT5

SIRT5 is another mitochondrial protein member in the sirtuin family and is expressed broadly in multiple organs, especially in the brain,

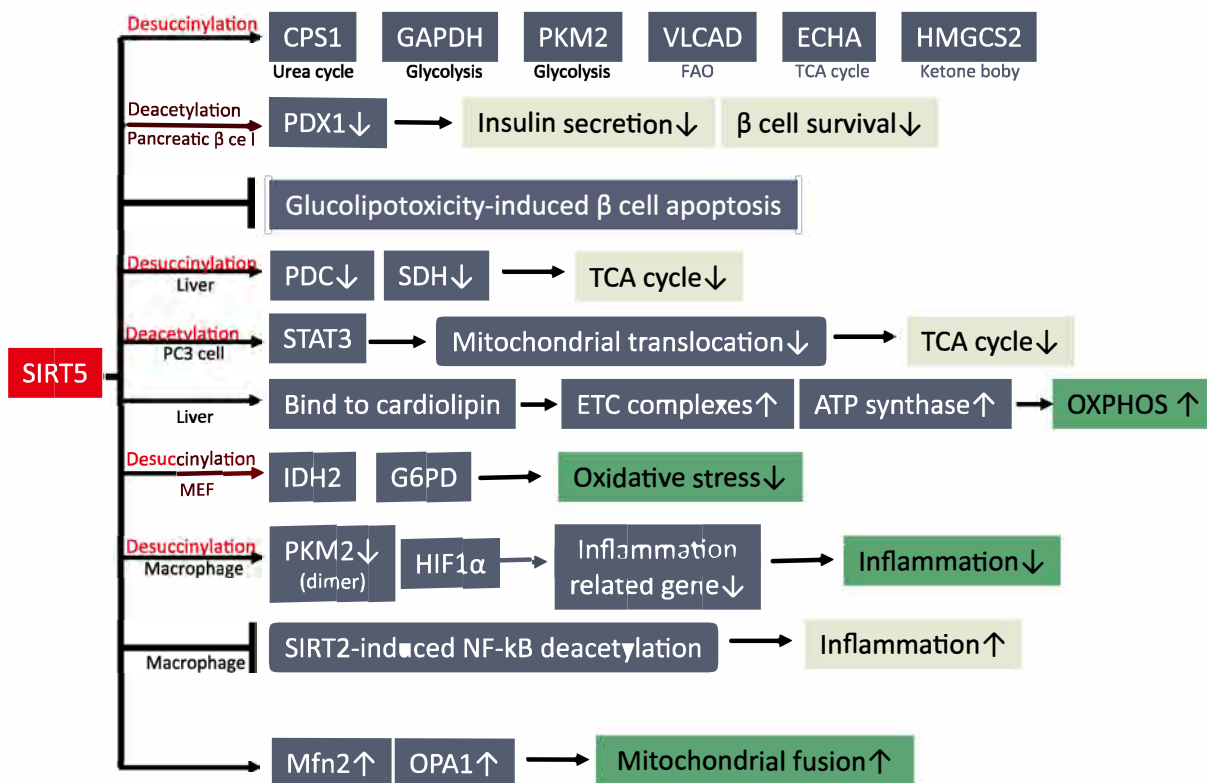


Fig. 6. SIRT5 participates in metabolism including urea cycle, glycolysis, fatty acid oxidation (FAO), TCA cycle and ketone body production. SIRT5 also regulates pancreatic β cell survival, mitochondrial function, oxidative stress and autophagy.

heart, kidney and skeletal muscle [111,112]. SIRT5 participates in the regulation of metabolism and mitochondrial function through multiple mechanisms (Fig. 6). Previous studies showed that SIRT5 is a NAD^+ -dependent deacetylase activating carbamoyl phosphate synthetase 1 (CPS1), a critical enzyme for detoxification of excess ammonia, to regulate the urea cycle [112,113]. Other posttranslational modifications of SIRT5 also include malonylation or succinylation on lysine residues in the enzymes associated with glycolysis, fatty acid oxidation and ketone production such as glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), PKM2, very long-chain acyl-CoA dehydrogenase (VLCAD), trifunctional enzyme subunit alpha (ECHA) and 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase 2 (HMGCS2) [113–119]. These findings indicate that SIRT5 may participate in metabolic pathway. Nevertheless, although a global increase in hypersuccinylated proteins and elevated serum ammonia under fasting conditions are observed in SIRT5 knockout mice, no overt metabolic disorders under either chow or HFD conditions are observed [120]. Similarly, despite leading to widespread decreases in protein acetylation, the overexpression of SIRT5 does not have significant effects on mitochondrial or cellular metabolism in mice [121]. In contrast, subsequent research showed that SIRT5 overexpression in ob/ob mice resulted in decreased malonylation and succinylation, leading to improved cellular glycolysis, suppressed gluconeogenesis, enhanced fatty acid oxidation, and attenuated hepatic steatosis [122]. Role of SIRT5 on insulin secretion and pancreatic β cell survival is also controversial. A research demonstrated that SIRT5 negatively regulates pancreatic and duodenal homeobox 1 (PDX1), which is a regulator of insulin gene expression and pancreatic β cell survival, through its deacetylase activity, despite SIRT5 having weak deacetylase activity [123]. Interestingly, SIRT5 mRNA levels were significantly upregulated in plasma of patients with T2DM. However, another research showed that SIRT5 protects pancreatic β cells against glucolipotoxicity-induced apoptosis and decrease in insulin secretion [124].

3.5.1. Role in mitochondrial biogenesis

SIRT5 is involved in the regulation of mitochondrial function and oxidative stress. SIRT5 desuccinylates and suppresses activities of pyruvate dehydrogenase complex (PDC) and succinate dehydrogenase (SDH), resulting in reduction of TCA cycle activity [125]. SIRT5 also deacetylates STAT3 and inhibits its mitochondrial translocation, where it then decreases TCA cycle activity [126]. In contrast, a study showed that SIRT5 binds to cardiolipin and desuccinylates inner mitochondrial membrane proteins including multiple subunits of four ETC complexes and ATP synthase, leading to promote respiratory chain function [119]. On the role of SIRT5 for the regulation of redox status, silencing SIRT5 inhibits IDH2 and G6PD desuccinylation, decreasing NADPH production and impairing the process of scavenging ROS, which leads to increasing cellular oxidative stress in murine embryonic fibroblasts (MEF) [127]. In mouse primary hepatocytes, the overexpression of SIRT5 increased ATP synthesis and oxygen consumption in a dose-dependent manner. SIRT5 is positively regulated by PGC-1 α in a PPAR α - and estrogen-related receptor (ERR) α -dependent manner; in contrast, interestingly, SIRT5 is negatively regulated by the AMPK activator metformin, which is the most widely used oral medication for T2DM [128].

3.5.2. Role in inflammation

The mechanism of the involvement of SIRT5 in inflammation is limited. Hypersuccinylation of PKM2 due to SIRT5 deficiency inhibits its enzymatic activity by promoting its tetramer-to-dimer transition, leading to promote its entry into nucleus, where a complex of PKM2-HIF1 α is formed at the promoter of IL-1 β gene in LPS-stimulated macrophages [129]. However, considering that the NAD^+/NADH ratio is associated with inflammation, the decreased levels of NAD^+ were related to the increased expression of SIRT2 and the decreased expression of SIRT5 in endotoxin-tolerant macrophages [130]. SIRT5 deficiency decreased the Toll-like receptor (TLR)-induced expression of inflammatory cytokines, such as IL-6. Competing with SIRT2, which deacetylates NF- κ B p65 to relieve inflammation, SIRT5 enhances the acetylation of p65 in a

deacetylase activity-independent manner, which consequently leads to the activation of the NF-κB pathway and its downstream cytokines, such as IL-6, TNF-α and MCP-1 [130].

3.5.3. Role in autophagy

SIRT5 silencing results in the increased succinylation of glutaminase, a key enzyme that transforms glutamine into glutamate to produce ammonia in mitochondria. In this process, autophagy and mitophagy increased the expression of the autophagy markers LC3 paralogs, the mitophagy marker BCL2 Interacting Protein3 (BNIP3) and the mitophagy pathway PINK1-PARK2 in human breast cancer cell lines MDA-MB-231 and mouse myoblast C2C12 [131]. Moreover, in SIRT5-overexpressing cells, the level of mitochondrial fusion markers such as Mfn2 and OPA1 increased, which indicates the relationship between SIRT5 and autophagy via mitochondrial quality control [131].

3.6. SIRT6

SIRT6 is mainly located in the nucleus and functions as a nuclear ADP-ribosyltransferase [132] and NAD⁺-dependent deacetylase [20]. SIRT6 has been identified to be involved in a variety of metabolic processes [133–138], lifespan [139,140], inflammation [141–143], DNA damage repair [144,145] and circadian rhythm [146]. SIRT6 is involved in the regulation of metabolism and mitochondrial function through multiple mechanisms (Fig. 7). Role of SIRT6 on glucose homeostasis which is associated with the pathogenesis for T2DM has been showed by several SIRT6 gene altered animals. Whole body SIRT6-deficient mice develop multiple metabolic defects, such as lower insulin like growth factor-1 (IGF-1) levels and severe hypoglycemia, eventually dying at approximately 4 weeks [140]. Liver-specific SIRT6-deficient mice are characterized by increased glycolysis and triglyceride

synthesis and reduced β-oxidation, which ultimately leads to fatty liver [133]. Muscle-specific SIRT6-deficient mice show impaired glucose tolerance, insulin resistance, attenuated whole body energy expenditure, and weakened exercise performance [147]. Pancreatic β cell specific SIRT6 knockout mice have lower ATP levels and mitochondrial complex levels in islets and glucose intolerance [137]. The myeloid specific SIRT6 knockout mice fed-HFD exhibited greater increases in body weight, fasting blood glucose and insulin levels, hepatic steatosis, glucose intolerance, and insulin resistance, compared to their wild-type littermates [148]. These findings indicate that SIRT6 may be a potential target involved in the pathogenesis of T2DM.

3.6.1. Role in glucose metabolism

Previous studies have confirmed that SIRT6 plays a pivotal role in the regulation of glycolysis and glycogen synthesis. SIRT6-deficient cells such as muscle cells and ES cells exhibit increased H3K9 acetylation in the promoters of glycolytic genes such as lactate dehydrogenase (LDH), triose phosphate isomerase (TPI), glucose transporter 1 (GLUT1), aldolase, and phosphofructokinase-1 (PFK1), accompanied by increased HIF1α transcriptional activity, leading to the upregulation of glycolysis and diminished mitochondrial respiration [134]. Additionally, tumor suppressor p53 directly activates SIRT6, which deacetylates FOXO1 that in turn reduces the interaction of FOXO1 and its downstream gluconeogenesis gene, such as phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) and glucose-6-phosphate (G6P) [149]. Conversely, SIRT6 induces PGC-1α acetylation by enhancing the activity of general control nonrepressed protein 5 (GCN5), which leads to decreases in gluconeogenesis genes, such as G6P and PEPCK, and then suppresses hepatic gluconeogenesis [135].

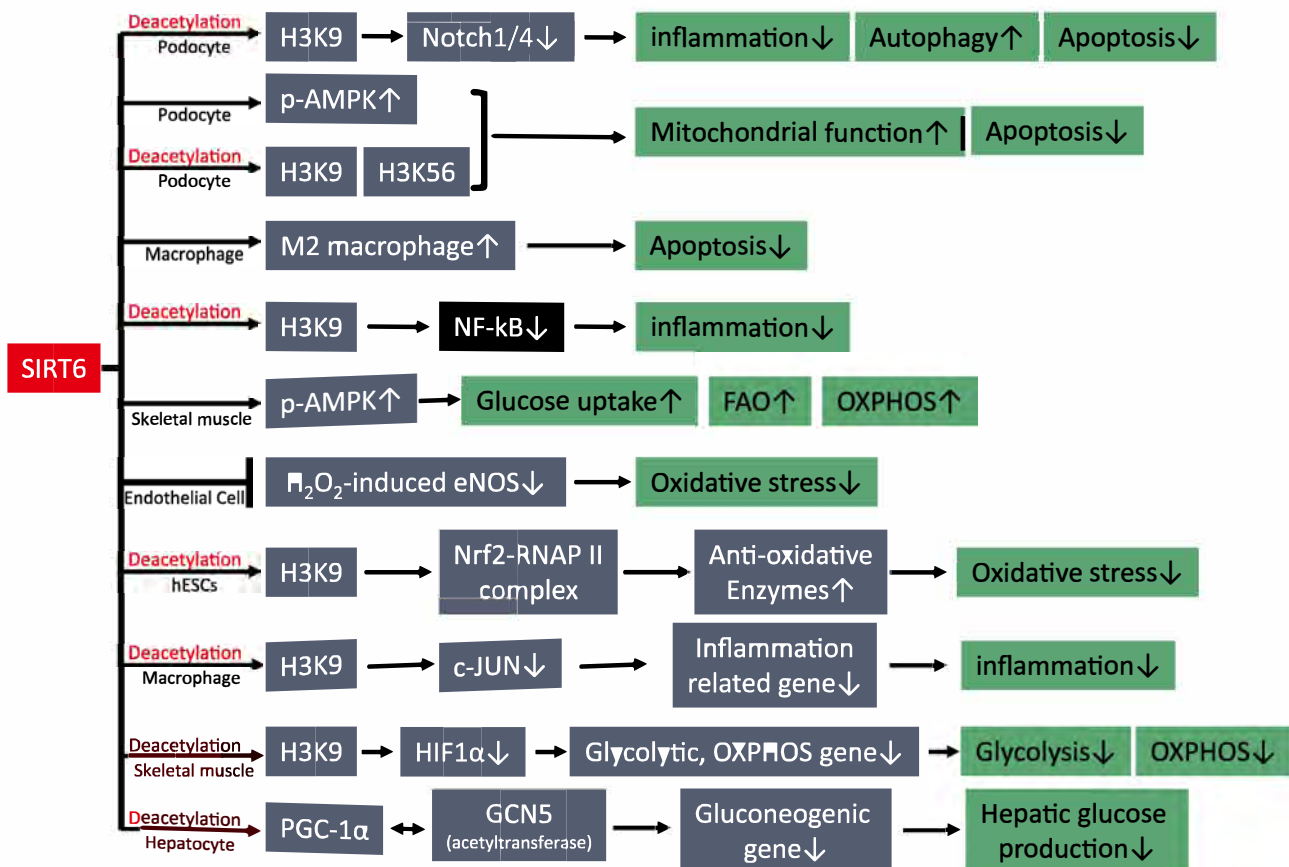


Fig. 7. SIRT6 regulates mitochondrial function related to fatty acid oxidation (FAO), oxidative phosphorylation (OXPHOS), oxidative stress, inflammation, autophagy/mitophagy and apoptosis, the multiple mechanism, and participates in the regulation of glycolysis and hepatic glucose production as well.

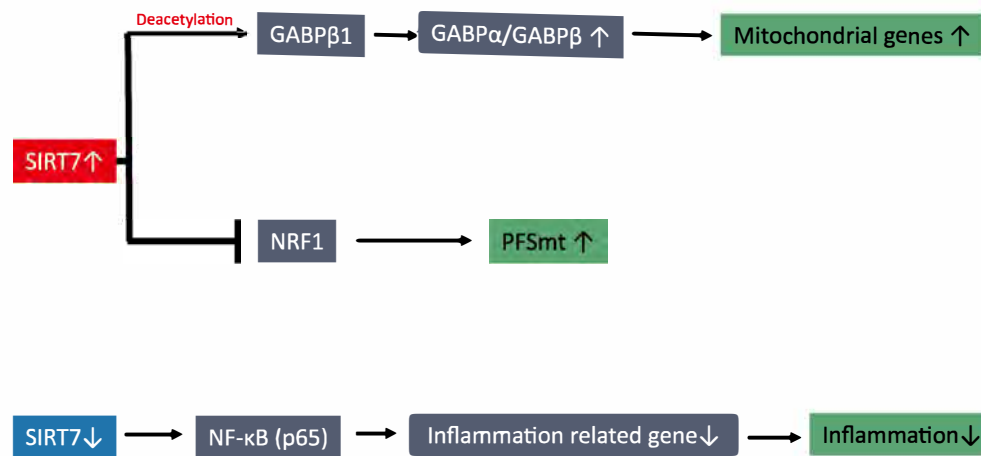


Fig. 8. SIRT7 enhances the expression of mitochondrial genes and ameliorates mitochondrial protein folding stress (PFSmt).

3.6.2. Role in mitochondrial biogenesis

SIRT6 was also shown to be connected to mitochondrial function and oxidative stress. Glucose-stimulated insulin secretion and ATP production are decreased in SIRT6-deficient MIN6 cells, which is related to mitochondrial damage [137]. The deletion of SIRT6 in muscle decreased the expression of genes involved in glucose and lipid uptake, fatty acid oxidation, and mitochondrial OXPHOS because of the lower AMPK phosphorylation [147]. SIRT6 overexpression reduces ROS levels and relieves oxidative stress in glioma cells [150]. SIRT6-deficient human embryonic stem cells (hESCs) exhibit elevated ROS levels, leading to oxidative stress. SIRT6 regulates the cellular redox homeostasis by co-activating Nrf2 antioxidant pathway. SIRT6 associates with Nrf2 and deacetylates H3K56 at the promoter of Nrf2 target genes such as HO-1, which is required for the recruitment of RNA polymerase II complex and subsequent transcriptional activation of Nrf2 and then restoring the oxidative damage caused by SIRT6 deficiency in hESCs [151]. Additionally, SIRT6 overexpression in cultured HVECs attenuates the decreased endothelial nitric oxide synthase (eNOS) level induced by hydrogen oxide (H₂O₂) [152].

3.6.3. Role in inflammation

SIRT6 has been confirmed to be involved in inflammation. It negatively regulates NF-κB signaling by deacetylating H3K9 at chromatin, leading to suppression of inflammation [141]. A clinical study showed that compared with nondiabetic individuals, T2DM patients have decreased SIRT6 expression in carotid plaque obtained from individuals undergoing carotid endarterectomy, which is related to oxidative stress and inflammation [153]. SIRT6-deficient macrophages from Sirt6 knockout mice showed hyperacetylation of H3K9 and increased occupancy of c-JUN in the promoter of inflammatory-related genes, leading to the elevation of their gene expression [142].

3.6.4. Role in DKD

SIRT6 was also found to be involved in the pathogenesis of DKD. The expression of SIRT6 evaluated by immunohistochemistry staining was markedly reduced in renal biopsies from patients with diabetic nephropathy, compared to normal subjects, diabetic patients without nephropathy and patients with other renal diseases such as IgA nephropathy and membranous nephropathy [154]. The mRNA levels of SIRT6 were positively correlated with estimated glomerular filtration rate (eGFR) and negatively correlated with proteinuria [154]. As the mechanism by which SIRT6 protect against diabetes-induced renal injuries, particularly podocyte injury, SIRT6 inhibits Notch1 and Notch4 transcription by deacetylating H3K9 in podocytes, leading to reduction of inflammation, apoptosis and induction of autophagy [154]. Additionally, other report showed that SIRT6 overexpression attenuates

high glucose-induced mitochondrial dysfunction in podocytes through H3K9 and H3K56 deacetylation and AMPK activation to maintain mitochondrial function and protect from apoptosis [155]. Furthermore, the overexpression of SIRT6 in macrophages protected podocytes against high-glucose-induced injury such as apoptosis through promotion of the macrophage M2 transformation [156].

3.7. SIRT7

Similar to SIRT1, SIRT7 is located throughout the nucleus and can be found in nucleoplasm, especially in the liver. SIRT7 is the least well-understood member of the sirtuin family [157,158]. An initial study confirmed that SIRT7 interacts with RNA polymerase I and positively regulates its transcriptional activity to maintain cell viability [157]. SIRT7 also functions as an NAD⁺-dependent deacetylase to participate in multiple cellular processes, such as DNA repair, cell survival, aging and cancer [158–161]. Numerous studies have shown that SIRT7 is involved in lipid and energy metabolism, which illuminates its potential connection to aging-related diseases such as T2DM, even though these studies are contradictory and controversial [158,159,162,163]. One research showed that SIRT7 knockout mice have a shorter lifespan, heart hypertrophy and inflammatory cardiomyopathy [159]. In contrast, another research showed that SIRT7 knockout mice are resistant to HFD-induced fatty liver, obesity and glucose intolerance [162]. Additionally, SIRT7 knockout mice ameliorates cisplatin-induced AKI and inflammation through reduction of nuclear translocation of NF-κB(p65) and suppressing the expression of TNF-α [164]. However, role of SIRT7 on the pathogenesis for DKD still remains unknown (Fig. 8).

3.7.1. Role in mitochondrial biogenesis

SIRT7 plays important roles in the regulation of mitochondrial function. SIRT7 deacetylates lysine residues located in the hetero- and homodimerization domains of GA-binding protein β1 (GABPβ1), a key regulator of nuclear-encoded mitochondrial genes, which induces the formation of the active GABPα/GABPβ complex and enhances the expression of mitochondrial genes. SIRT7-deficient mice show multi-systemic mitochondrial dysfunction, such as increased blood lactate levels, plasma triglycerides and free fatty acids, cardiac dysfunction, and age-related hearing loss, while SIRT7 overexpression rescues these mitochondrial functional defects [165]. Additionally, SIRT7 ameliorates mitochondrial protein folding stress (PFS^m) by suppressing NRF1 activity and reducing the expression of the mitochondrial translation machinery [166].

Table 2
The direct effects of Sirtuins in T2DM and DKD.

Sirtuins	Enzyme activity	Substrates	Effect for pathophysiology of T2DM and DKD	Activators
SIRT1	Deacetylase	PGC-1 α	Mitochondrial biogenesis \uparrow Oxidative stress \downarrow EMT \downarrow	CR Resveratrol BF175 SRT1720
		Nrf2-ARE NF- κ B (p65) STAT3 LC3,Atg5,Atg7 Mfn1, Mfn2	Oxidative stress \downarrow Inflammation \downarrow Apoptosis \downarrow Autophagy/mitophagy \uparrow Mitochondrial fusion \uparrow	
SIRT2	Deacetylase	FOXO3 α G6PD Mfn2,Drp1,TFAM	Oxidative stress \downarrow Oxidative stress \downarrow Mitochondrial fission \downarrow /fusion \uparrow	-
		NF- κ B (p65) PGC-1 α	Inflammation \downarrow Mitochondrial biogenesis \uparrow	
SIRT3	Deacetylase	SOD2 IDH2 FOXO3 α ,catalase OPA1,MFN1 Drp1 PGC-1 α	Oxidative stress \downarrow Oxidative stress \downarrow Oxidative stress \downarrow Mitochondrial fission \downarrow /fusion \uparrow Mitochondrial biogenesis \uparrow	AICAR Honokiol
		Nortch1/4 AMPK NF- κ B, c-JUN eNOS Nrf2-RNAP II complex HIF1 α PGC-1 α ,GCN5	Inflammation \downarrow , autophagy \uparrow , apoptosis \downarrow Mitochondrial biogenesis \uparrow , apoptosis \downarrow Inflammation \downarrow Oxidative stress \downarrow Oxidative stress \downarrow	-
SIRT6	Deacetylase		Glycolysis \downarrow Hepatic glucose production \downarrow	

4. Activators of Sirtuins in T2DM and DKD

Based on the role of the Sirtuins family mentioned above, especially the role of SIRT1, 3 and SIRT6 in the pathogenesis of T2DM and DKD, activators of sirtuins have been investigating as potential targets for ameliorating T2DM and DKD. Some of them played positive roles in improving mitochondrial function, inhibiting oxidative stress and inflammation.

Resveratrol (RSV) is the most well-known compound for stimulating sirtuins [167]. In a clinical study, RSV increased insulin sensitivity via Akt/protein kinase B (PKB) pathway, then reduced oxidative stress in T2DM patients [168]. It can increase the number of mitochondria in the muscle of KKAY mice by deacetylation of PGC-1 α , protecting against diet-induced obesity and insulin resistance [169]. It can also reduce the oxidative damage and apoptosis of podocytes induced by high-glucose stimulation via SIRT1/PGC-1 α -mediated mitochondrial protection [170]. In liver of old mice, RSV can reduce the expression of TNF- α , IL-1 β , which are increasing during aging [171]. In subsequent studies, more efficient activators were found. SRT1720 is a small molecule activator of SIRT1 that are structurally unrelated to, and 1000-fold more potent than RSV. It can improve insulin sensitivity, lower plasma glucose, and increase mitochondrial capacity in adipose tissue, skeletal muscle and liver of Zucker fa/fa rats [172]. SRT1720 deacetylates PGC-1 α to improve mitochondrial biogenesis and NF- κ B to inhibit inflammatory pathway in vivo and in vitro [173]. It activates AMPK in a SIRT1-independent manner to increase mitochondrial function in

skeletal muscle [174] and attenuates renal fibrosis by inhibiting oxidative stress [175]. BF175 is another new potent, selective agonist of SIRT1. It can protect podocytes from high glucose-induced injury by improving the mitochondrial function and homeostasis via PGC-1 α activation in a SIRT1-dependent manner [176] (Fig. 2, Table 2).

As an activator of AMPK, AICAR can reduce cisplatin-induced AKI and improve renal function via the deacetylase activity of SIRT3 [94]. Honokiol is a natural biphenolic compound with anti-inflammatory, anti-oxidative effects [177]. Previous studies demonstrated that as an activator of SIRT3, honokiol increases SIRT3 activity to deacetylate mitochondrial MnSOD in a dose dependent manner to reduce ROS production in cardiomyocytes [177]. Further research showed that honokiol increased expression of MFN1 and OPA1 to maintain the mitochondrial fusion dynamics in cardiomyocytes [178] (Fig. 4, Table2).

5. Conclusion

Existing studies elucidate the role of mitochondrial function in the pathogenesis of T2DM and DKD, showing that the regulation of mitochondrial oxidative stress, biogenesis, mitophagy, fusion and fission processes and other potential mechanisms is involved. As described above, Sirtuins have been confirmed by numerous studies to participate in the regulation of mitochondrial quality control through multiple mechanisms. In particular, SIRT1, 2, 3 and 6 are closely involved in the pathogenesis for T2DM and DKD, we speculate that it may be closely related to their deacetylation effects; therefore, they are considered to be potential targets to relieve insulin resistance, T2DM and DKD. However, there is little direct evidence that SIRT4, 5 and 7 is involved in the pathogenesis for T2DM and DKD. Given its effects on metabolism, and although there are still some contradictions on the physiological role on metabolism and mitochondrial regulation, SIRT4, 5 and 7 is hypothesized to play a role in the pathogenesis for T2DM and DKD.

Transparency document

The [Transparency document](#) associated this article can be found, in online version.

Declaration of competing interest

Boehringer Ingelheim, Mitsubishi Tanabe Pharma, Kyowa Hakko Kirin, Taisho Toyama Pharmaceutical Co. and Ono Pharmaceutical Co. contributed to establishing the Division of Anticipatory Molecular Food Science and Technology. The authors declare that there is no duality of interest associated with this manuscript.

Acknowledgement

This study was supported in part by the Japan China Sasakawa Medical Fellowship to Jing Xu.

References

- [1] D.J. Magliano, R.M. Islam, E.L.M. Barr, E.W. Gregg, M.E. Pavkov, J.L. Harding, M. Tabesh, D.N. Koye, J.E. Shaw, Trends in incidence of total or type 2 diabetes: systematic review, *BMJ (Clinical research ed.)* 366 (2019) 15003.
- [2] D. Dabelea, E.J. Mayer-Davis, S. Saydah, G. Imperatore, B. Linder, J. Divers, R. Bell, A. Badaru, J.W. Talton, T. Crume, A.D. Liese, A.T. Merchant, J.M. Lawrence, K. Reynolds, L. Dolan, L.L. Liu, R.F. Hamman, Prevalence of type 1 and type 2 diabetes among children and adolescents from 2001 to 2009, *Jama* 311 (2014) 1778–1786.
- [3] L. Wang, P. Gao, M. Zhang, Z. Huang, D. Zhang, Q. Deng, Y. Li, Z. Zhao, X. Qin, D. Jin, M. Zhou, X. Tang, Y. Hu, L. Wang, Prevalence and ethnic pattern of diabetes and prediabetes in China in 2013, *Jama* 317 (2017) 2515–2523.
- [4] Y.M. Huang, D. Xu, J. Long, Y. Shi, L. Zhang, H. Wang, A. Levin, M.H. Zhao, Spectrum of chronic kidney disease in China: a national study based on hospitalized patients from 2010 to 2015, *Nephrology (Carlton, Vic.)* 24 (2019) 725–736.
- [5] T. Ninomiya, V. Perkovic, B.E. de Galan, S. Zoungas, A. Pillai, M. Jardine, A. Patel,

- A. Cass, B. Neal, N. Poulter, C.E. Mogensen, M. Cooper, M. Marre, B. Williams, P. Hamet, G. Mancina, M. Woodward, S. Macmahon, J. Chalmers, Albuminuria and kidney function independently predict cardiovascular and renal outcomes in diabetes, *J. Am. Soc. Nephrol.* 20 (2009) 1813–1821.
- [6] C. Wanner, S.E. Inzucchi, J.M. Lachin, D. Fitchett, M. von Eynatten, M. Mattheus, O.E. Johansen, H.J. Woerle, U.C. Broedl, B. Zinman, Empagliflozin and progression of kidney disease in type 2 diabetes, *N. Engl. J. Med.* 375 (2016) 323–334.
- [7] B. Neal, V. Perkovic, K.W. Mahaffey, D. de Zeeuw, G. Fulcher, N. Erondu, W. Shaw, G. Law, M. Desai, D.R. Matthews, Canagliflozin and cardiovascular and renal events in type 2 diabetes, *N. Engl. J. Med.* 377 (2017) 644–657.
- [8] H.J. Heerspink, M. Desai, M. Jardine, D. Balis, G. Meininger, V. Perkovic, Canagliflozin slows progression of renal function decline independently of glycaemic effects, *J. Am. Soc. Nephrol.* 28 (2017) 368–375.
- [9] T.A. Zelniker, E. Braunwald, Cardiac and renal effects of sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors in diabetes: JACC state-of-the-art review, *J. Am. Coll. Cardiol.* 72 (2018) 1845–1855.
- [10] J.F.E. Mann, D.D. Orsted, K. Brown-Frandsen, S.P. Marso, N.R. Poulter, S. Rasmussen, K. Tornoe, B. Zinman, J.B. Buse, Liraglutide and renal outcomes in type 2 diabetes, *N. Engl. J. Med.* 377 (2017) 839–848.
- [11] S.P. Marso, S.C. Bain, A. Conzoli, F.G. Eliaschewitz, E. Jodar, L.A. Leiter, I. Lingvay, J. Rosenstock, J. Seufert, M.L. Warren, V. Woo, O. Hansen, A.G. Holst, J. Pettersson, T. Vilsboll, Semaglutide and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes, *N. Engl. J. Med.* 375 (2016) 1834–1844.
- [12] I. Sturmlechner, M. Durik, C.J. Sieben, D.J. Baker, J.M. van Deursen, Cellular senescence in renal ageing and disease, *Nat. Rev. Nephrol.* 13 (2017) 77–89.
- [13] K.E. Wellen, Inflammation, stress, and diabetes, *J. Clin. Investig.* 115 (2005) 1111–1119.
- [14] D.S. Sandip Patel, Role of NF-kappa B in the pathogenesis of diabetes and its associated complications, *Pharmacol. Rep.* 61 (2009) 595–603.
- [15] D.C. Chan, Mitochondria: dynamic organelles in disease, aging, and development, *Cell* 125 (2006) 1241–1252.
- [16] R. Blake, I.A. Trounce, Mitochondrial dysfunction and complications associated with diabetes, *Biochim. Biophys. Acta* 1840 (2014) 1404–1412.
- [17] J. Wanagat, A.L. Hevener, Mitochondrial quality control in insulin resistance and diabetes, *Curr. Opin. Genet. Dev.* 38 (2016) 118–126.
- [18] L. Guarente, H. Franklin, Epstein lecture: sirtuins, aging, and medicine, *N. Engl. J. Med.* 364 (2011) 2235–2244.
- [19] M.C. Haigis, L.P. Guarente, Mammalian sirtuins—emerging roles in physiology, aging, and calorie restriction, *Genes Dev.* 20 (2006) 2913–2921.
- [20] M. Kitada, Y. Ogura, I. Monno, D. Koya, Sirtuins and type 2 diabetes: role in inflammation, oxidative stress, and mitochondrial function, *Front Endocrinol (Lausanne)* 10 (2019) 187.
- [21] S. D., Kitt Falk Petersen, Douglas Befroy, a.G.I.S, Rina Garcia, Impaired mitochondrial activity in the insulin-resistant offspring of patients with type 2 diabetes, *N. Engl. J. Med.* 350 (2004) 664–671.
- [22] K. Morino, K.F. Petersen, S. Dufour, D. Befroy, J. Frattini, N. Shatzkes, S. Neschen, M.F. White, S. Bilz, S. Sono, M. Pypaert, G.I. Shulman, Reduced mitochondrial density and increased IRS-1 serine phosphorylation in muscle of insulin-resistant offspring of type 2 diabetic parents, *J. Clin. Invest.* 115 (2005) 3587–3593.
- [23] W. Qi, H.A. Keenan, Q. Li, A. Ishikado, A. Kannt, T. Sadowski, M.A. Yorek, I.H. Wu, S. Lockhart, L.J. Coppey, A. Pfenninger, C.W. Liew, G. Qiang, A.M. Burkart, S. Hastings, D. Pober, C. Cahill, M.A. Niewczasz, W.J. Israelsen, L. Tinsley, I.E. Stillman, P.S. Amenta, E.P. Feener, M.G. Vander Heiden, R.C. Stanton, G.L. King, Pyruvate kinase M2 activation may protect against the progression of diabetic glomerular pathology and mitochondrial dysfunction, *Nat. Med.* 23 (2017) 753–762.
- [24] D. Gordin, H. Shah, T. Shinjo, R. St-Louis, W. Qi, K. Park, S.M. Paniagua, D.M. Pober, I.H. Wu, V. Bahnman, M.J. Brissett, L.J. Tinsley, J.M. Dreyfuss, H. Pan, Y. Dong, M.A. Niewczasz, P. Amenta, T. Sadowski, A. Kannt, H.A. Keenan, G.L. King, Characterization of glycolytic enzymes and pyruvate kinase M2 in type 1 and 2 diabetic nephropathy, *Diabetes Care* 42 (2019) 1263–1273.
- [25] G.I.S. Bradford, B. Lowell, Mitochondrial dysfunction and diabetes, *Science* 307 (2005) 384–387.
- [26] J. Nunnari, A. Suomalainen, Mitochondria: in sickness and in health, *Cell* 148 (2012) 1145–1159.
- [27] T. Nishikawa, D. Edelstein, X.L. Du, S. Yamagishi, T. Matsumura, Y. Kaneda, M.A. Yorek, D. Beebe, P.J. Oates, H.P. Hammes, I. Giardino, M. Brownlee, Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage, *Nature* 404 (2000) 787–790.
- [28] H.P. Indo, H.C. Yen, I. Nakanishi, K. Matsumoto, M. Tamura, Y. Nagano, H. Matsui, O. Gusev, R. Cornette, T. Okuda, Y. Minamiyama, H. Ichikawa, S. Suenaga, M. Oki, T. Sato, T. Ozawa, D.K. Clair, H.J. Majima, A mitochondrial superoxide therapy for oxidative stress diseases and aging, *J. Clin. Biochem. Nutr.* 56 (2015) 1–7.
- [29] M. Kitada, S. Kume, N. Imaizumi, D. Koya, Resveratrol improves oxidative stress and protects against diabetic nephropathy through normalization of Mn-SOD dysfunction in AMPK/SIRT1-independent pathway, *Diabetes* 60 (2011) 634–643.
- [30] D. Bach, D. Naon, S. Pich, F.X. Soriano, N. Vega, J. Rieusset, M. Laville, C. Guillet, Y. Boirie, H. Wallberg-Henriksson, M. Manco, M. Calvani, M. Castagneto, M. Palacin, G. Mingrone, J.R. Zierath, H. Vidal, A. Zorzano, Expression of Mfn2, the Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 2A gene, in human skeletal muscle: effects of type 2 diabetes, obesity, weight loss, and the regulatory role of tumor necrosis factor alpha and interleukin-6, *Diabetes* 54 (2005) 2685–2693.
- [31] S. Takagi, J. Li, Y. Takagaki, M. Kitada, K. Nitta, T. Takasu, K. Kanasaki, D. Koya, Ipragliflozin improves mitochondrial abnormalities in renal tubules induced by a high-fat diet, *J. Diabetes Investig* 9 (2018) 1025–1032.
- [32] Y. Ogura, M. Kitada, I. Monno, K. Kanasaki, A. Watanabe, D. Koya, Renal mitochondrial oxidative stress is enhanced by the reduction of Sirt3 activity, in Zucker diabetic fatty rats, *Redox Rep.* 23 (2018) 153–159.
- [33] Q. Nie, C. Wang, G. Song, H. Ma, D. Kong, X. Zhang, K. Gan, Y. Tang, Mitofusin 2 deficiency leads to oxidative stress that contributes to insulin resistance in rat skeletal muscle cells, *Mol. Biol. Rep.* 41 (2014) 6975–6983.
- [34] R.J. Youle, D.P. Narendra, Mechanisms of mitophagy, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 12 (2011) 9–14.
- [35] L.C. Gomes, G. Di Benedetto, L. Scorrano, During autophagy mitochondria elongate, are spared from degradation and sustain cell viability, *Nat. Cell Biol.* 13 (2011) 589–598.
- [36] M. Kitada, Y. Ogura, I. Monno, D. Koya, Regulating autophagy as a therapeutic target for diabetic nephropathy, *Current Diabetes Reports* 17 (2017) 53.
- [37] M.T. C., G.C. Higgins, Mitochondrial dysfunction and mitophagy: the beginning and end to diabetic nephropathy? *Br. J. Pharmacol.* 171 (2014) 1917–1942.
- [38] M. Kitada, A. Takeda, T. Nagai, H. Ito, K. Kanasaki, D. Koya, Dietary restriction ameliorates diabetic nephropathy through anti-inflammatory effects and regulation of the autophagy via restoration of Sirt1 in diabetic Wistar fatty (fa/fa) rats: a model of type 2 diabetes, *Exp. Diabetes Res.* 2011 (2011) 908185.
- [39] M. Kitada, Y. Ogura, T. Suzuki, S. Sen, S.M. Lee, K. Kanasaki, S. Kume, D. Koya, A very-low-protein diet ameliorates advanced diabetic nephropathy through autophagy induction by suppression of the mTORC1 pathway in Wistar fatty rats, an animal model of type 2 diabetes and obesity, *Diabetologia* 59 (2016) 1307–1317.
- [40] M. Kitada, S. Kume, A. Takeda-Watanabe, K. Kanasaki, D. Koya, Sirtuins and renal diseases: relationship with aging and diabetic nephropathy, *Clin Sci (Lond)* 124 (2013) 153–164.
- [41] M. Tanno, J. Sakamoto, T. Miura, K. Shimamoto, Y. Horio, Nucleocytoplasmic shuttling of the NAD⁺-dependent histone deacetylase SIRT1, *J. Biol. Chem.* 282 (2007) 6823–6832.
- [42] A. Vaquero, M. Scher, D. Lee, H. Erdjument-Bromage, P. Tempst, D. Reinberg, Human Sirt1 interacts with histone H1 and promotes formation of facultative heterochromatin, *Mol. Cell* 16 (2004) 93–105.
- [43] J. Lin, C. Handschin, B.M. Spiegelman, Metabolic control through the PGC-1 family of transcription coactivators, *Cell Metab.* 1 (2005) 361–370.
- [44] J. St-Pierre, S. Drori, M. Uldry, J.M. Silvaggi, J. Rhee, S. Jager, C. Handschin, K. Zheng, J. Lin, W. Yang, D.K. Simon, R. Bachoo, B.M. Spiegelman, Suppression of reactive oxygen species and neurodegeneration by the PGC-1 transcriptional coactivators, *Cell* 127 (2006) 397–408.
- [45] J. R., Z. Gerhart-Hines, O. Bare, C. Lerin, S.H. Kim, R. Mostoslavsky, et al., Metabolic control of muscle mitochondrial function and fatty acid oxidation through SIRT1/PGC-1 α , *EMBO J.* 26 (2007) 1913–1923.
- [46] C. Canto, Z. Gerhart-Hines, J.N. Feige, M. Lagouge, L. Noriega, J.C. Milne, P.J. Elliott, P. Puigserver, J. Auwerx, AMPK regulates energy expenditure by modulating NAD⁺ metabolism and SIRT1 activity, *Nature* 458 (2009) 1056–1060.
- [47] N.L. Price, A.P. Gomes, A.J. Ling, F.V. Duarte, A. Martin-Montalvo, B.J. North, B. Agarwal, L. Ye, G. Ramadori, J.S. Teodoro, B.P. Hubbard, A.T. Varela, J.G. Davis, B. Varamini, A. Hafner, R. Moaddel, A.P. Rolo, R. Coppari, C.M. Palmeira, R. de Cabo, J.A. Baur, D.A. Sinclair, SIRT1 is required for AMPK activation and the beneficial effects of resveratrol on mitochondrial function, *Cell Metab.* 15 (2012) 675–690.
- [48] M. Iwabu, T. Yamauchi, M. Okada-Iwabu, K. Sato, T. Nakagawa, M. Funata, M. Yamaguchi, S. Namiki, R. Nakayama, M. Tabata, H. Ogata, N. Kubota, I. Takamoto, Y.K. Hayashi, N. Yamauchi, H. Waki, M. Fukayama, I. Nishino, K. Tokuyama, K. Ueki, Y. Oike, S. Ishii, K. Hirose, T. Shimizu, K. Touhara, T. Kadowaki, Adiponectin and AdipoR1 regulate PGC-1 α and mitochondria by Ca²⁺ and AMPK/SIRT1, *Nature* 464 (2010) 1313–1319.
- [49] Y. Olmos, F.J. Sanchez-Gomez, B. Wild, N. Garcia-Quintans, S. Cabezudo, S. Lamas, M. Monsalve, Sirt1 regulation of antioxidant genes is dependent on the formation of a FoxO3a/PGC-1 α complex, *Antioxid. Redox Signal.* 19 (2013) 1507–1521.
- [50] K. Huang, J. Huang, X. Xie, S. Wang, C. Chen, X. Shen, P. Liu, H. Huang, Sirt1 resists advanced glycation end products-induced expressions of fibronectin and TGF- β 1 by activating the Nrf2/ARE pathway in glomerular mesangial cells, *Free Radic. Biol. Med.* 65 (2013) 528–540.
- [51] Q. Zhang, Q. Deng, J. Zhang, J. Ke, Y. Zhu, R.W. Wen, Z. Ye, H. Peng, Z.Z. Su, C. Wang, T. Lou, Activation of the Nrf2-ARE pathway ameliorates hyperglycemia-mediated mitochondrial dysfunction in podocytes partly through Sirt1, *Cell. Physiol. Biochem.* 48 (2018) 1–15.
- [52] Y. Yuan, Y. Chen, P. Zhang, S. Huang, C. Zhu, G. Ding, B. Liu, T. Yang, A. Zhang, Mitochondrial dysfunction accounts for aldosterone-induced epithelial-to-mesenchymal transition of renal proximal tubular epithelial cells, *Free Radic. Biol. Med.* 53 (2012) 30–43.
- [53] M. Giorgio, E. Migliaccio, F. Orsini, D. Paolucci, M. Moroni, C. Contursi, G. Pelliccia, L. Luzzi, S. Minucci, M. Marzocco, P. Pinton, R. Rizzuto, P. Bernardi, F. Paolucci, P.G. Pelicci, Electron transfer between cytochrome c and p66Shc generates reactive oxygen species that trigger mitochondrial apoptosis, *Cell* 122 (2005) 221–233.
- [54] S. Kumar, Y.R. Kim, A. Vikram, A. Naqvi, Q. Li, M. Kassan, V. Kumar, M.M. Bachschmid, J.S. Jacobs, A. Kumar, K. Irani, Sirtuin1-regulated lysine acetylation of p66Shc governs diabetes-induced vascular oxidative stress and endothelial dysfunction, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 114 (2017) 1714–1719.
- [55] Y. M., Lin-feng Chen, Warner C. Greene, Acetylation of RelA at discrete sites regulates distinct nuclear functions of NF- κ B, *EMBO J.* 21 (2002) 6539–6548.
- [56] T. Yoshizaki, S. Schenk, T. Imamura, J.L. Bandyupadhyay, N. Sonoda, E.J. Bae, D.Y. Oh, M. Lu, J.C. Milne, C. Westphal, G. Bandyopadhyay, J.M. Olefsky, SIRT1 inhibits

- inflammatory pathways in macrophages and modulates insulin sensitivity, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 298 (2010) E419–E428.
- [57] T. Yoshizaki, J.C. Milne, T. Imamura, S. Schenk, N. Sonoda, J.L. Babendure, J.C. Lu, J.J. Smith, M.R. Jirousek, J.M. Olefsky, SIRT1 exerts anti-inflammatory effects and improves insulin sensitivity in adipocytes, *Mol. Cell. Biol.* 29 (2009) 1363–1374.
- [58] Y.Z. Ruijie Liu, Xuezu Li, Haibing Chen, Belinda Jim, Ming-Ming Zhou, Peter Y. Chuang, John Cijiang He, Role of transcription factor acetylation in diabetic kidney disease, *Diabetes* 63 (2014) 2240–2253.
- [59] D.C. Rubinsztein, G. Marino, G. Kroemer, Autophagy and aging, *Cell* 146 (2011) 682–695.
- [60] I.H. Lee, L. Cao, R. Mostoslavsky, D.B. Lombard, J. Liu, N.E. Bruns, M. Tsokos, F.W. Alt, T. Finkel, A role for the NAD-dependent deacetylase Sirt1 in the regulation of autophagy, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105 (2008) 3374–3379.
- [61] R. Huang, Y. Xu, W. Wan, X. Shou, J. Qian, Z. You, B. Liu, C. Chang, T. Zhou, J. Lippincott-Schwartz, W. Liu, Deacetylation of nuclear LC3 drives autophagy initiation under starvation, *Mol. Cell* 57 (2015) 456–466.
- [62] N.T.K. Oanh, Y.Y. Park, H. Cho, Mitochondria elongation is mediated through SIRT1-mediated MFN1 stabilization, *Cell. Signal.* 38 (2017) 67–75.
- [63] T.G. Biel, S. Lee, J.A. Flores-Toro, J.W. Dean, K.L. Go, M.H. Lee, B.K. Law, M.E. Law, W.A. Dunn Jr., I. Zendejas, K.E. Behrns, J.S. Kim, Sirtuin 1 suppresses mitochondrial dysfunction of ischemic mouse livers in a mitofusin 2-dependent manner, *Cell Death Differ.* 23 (2016) 279–290.
- [64] P. Gomes, T. Fleming Outeiro, C. Cavadas, Emerging role of Sirtuin 2 in the regulation of mammalian metabolism, *Trends Pharmacol. Sci.* 36 (2015) 756–768.
- [65] S.C. Dryden, A.A. Nahhas, J.E. Nowak, A.S. Goustein, M.A. Tainsky, Role for human SIRT2 NAD-dependent deacetylase activity in control of mitotic exit in the cell cycle, *Mol. Cell. Biol.* 23 (2003) 3173–3185.
- [66] A. Vaquero, M.B. Scher, D.H. Lee, A. Sutton, H.L. Cheng, F.W. Alt, L. Serrano, R. Sternglanz, D. Reinberg, Sirt2 is a histone deacetylase with preference for histone H4 Lys 16 during mitosis, *Genes Dev.* 20 (2006) 1256–1261.
- [67] Y.B. Teng, H. Jing, P. Aramsangtienchai, B. He, S. Khan, J. Hu, H. Lin, Q. Hao, Efficient demethylase activity of SIRT2 revealed by kinetic and structural studies, *Sci. Rep.* 5 (2015) 8529.
- [68] L. Lantier, A.S. Williams, C.C. Hughey, D.P. Bracy, F.D. James, M.A. Ansari, D. Gius, D.H. Wasserman, SIRT2 knockout exacerbates insulin resistance in high fat-fed mice, *PLoS One* 13 (2018) e0208634.
- [69] F. Wang, M. Nguyen, Qin Fx, Q. Tong, SIRT2 deacetylates FOXO3a in response to oxidative stress and caloric restriction, *Aging Cell* 6 (2007) 505–514.
- [70] Y.P. Wang, L.S. Zhou, Y.Z. Zhao, S.W. Wang, L.L. Chen, L.X. Liu, Z.Q. Ling, F.J. Hu, Y.P. Sun, J.Y. Zhang, C. Yang, Y. Yang, Y. Xiong, K.L. Guan, D. Ye, Regulation of G6PD acetylation by SIRT2 and KAT9 modulates NADPH homeostasis and cell survival during oxidative stress, *EMBO J.* 33 (2014) 1304–1320.
- [71] V. Lemos, R.M. de Oliveira, L. Naia, E. Szezo, E. Ramos, S. Pinho, F. Magro, C. Cavadas, A.C. Rego, V. Costa, T.F. Outeiro, P. Gomes, The NAD⁺-dependent deacetylase SIRT2 attenuates oxidative stress and mitochondrial dysfunction and improves insulin sensitivity in hepatocytes, *Hum. Mol. Genet.* 26 (2017) 4105–4117.
- [72] J. Krishnan, C. Danzer, T. Simka, J. Ukropec, K.M. Walter, S. Kumpf, P. Mirtschink, B. Ukropcova, D. Gasperikova, T. Pedrazzini, W. Krek, Dietary obesity-associated Hif1alpha activation in adipocytes restricts fatty acid oxidation and energy expenditure via suppression of the Sirt2-NAD⁺ system, *Genes Dev.* 26 (2012) 259–270.
- [73] K.M. Rothgiesser, S. Erener, S. Waibel, B. Luscher, M.O. Hottiger, Correction: SIRT2 regulates NF-kappaB-dependent gene expression through deacetylation of p65 Lys310, *J. Cell Sci.* 132 (2019), <https://doi.org/10.1242/jcs.073783>.
- [74] G. Lo Sasso, K.J. Menzies, A. Mottis, A. Piersigilli, A. Perino, H. Yamamoto, K. Schoonjans, J. Auwerx, SIRT2 deficiency modulates macrophage polarization and susceptibility to experimental colitis, *PLoS One* 9 (2014) e103573.
- [75] J. Lin, B. Sun, C. Jiang, H. Hong, Y. Zheng, Sirt2 suppresses inflammatory responses in collagen-induced arthritis, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 441 (2013) 897–903.
- [76] Y. Zhao, J. Yang, W. Liao, X. Liu, H. Zhang, S. Wang, D. Wang, J. Feng, L. Yu, W.G. Zhu, Cytosolic FoxO1 is essential for the induction of autophagy and tumour suppressor activity, *Nat. Cell Biol.* 12 (2010) 665–675.
- [77] D.B. Lombard, F.W. Alt, H.L. Cheng, J. Bunkenborg, R.S. Streeper, R. Mostoslavsky, J. Kim, G. Yancopoulos, D. Valenzuela, A. Murphy, Y. Yang, Y. Chen, M.D. Hirschey, R.T. Bronson, M. Haigis, L.P. Guarente, R.V. Farese Jr., S. Weissman, E. Verdin, B. Schwer, Mammalian Sir2 homolog SIRT3 regulates global mitochondrial lysine acetylation, *Mol. Cell. Biol.* 27 (2007) 8807–8814.
- [78] B.H. Ahn, H.S. Kim, S. Song, I.H. Lee, J. Liu, A. Vassilopoulos, C.X. Deng, T. Finkel, A role for the mitochondrial deacetylase Sirt3 in regulating energy homeostasis, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105 (2008) 14447–14452.
- [79] H.J. Weir, J.D. Lane, N. Balthasar, SIRT3: a central regulator of mitochondrial adaptation in health and disease, *Genes Cancer* 4 (2013) 118–124.
- [80] P.W. Caton, S.J. Richardson, J. Kieswich, M. Bugliani, M.L. Holland, P. Marchetti, N.G. Morgan, M.M. Yaqoob, M.J. Holness, M.C. Sugden, Sirtuin 3 regulates mouse pancreatic beta cell function and is suppressed in pancreatic islets isolated from human type 2 diabetic patients, *Diabetologia* 56 (2013) 1068–1077.
- [81] D. Bellizzi, G. Rose, P. Cavalcante, G. Covelto, S. Dato, F. De Rango, V. Greco, M. Maggolini, E. Feraco, V. Mari, C. Franceschi, G. Passarino, G. De Benedictis, A novel VNTR enhancer within the SIRT3 gene, a human homologue of SIR2, is associated with survival at oldest ages, *Genomics* 85 (2005) 258–263.
- [82] E. Jing, B. Emanuelli, M.D. Hirschey, J. Boucher, K.Y. Lee, D. Lombard, E.M. Verdin, C.R. Kahn, Sirtuin-3 (Sirt3) regulates skeletal muscle metabolism and insulin signaling via altered mitochondrial oxidation and reactive oxygen species production, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108 (2011) 14608–14613.
- [83] Y. Zhou, A.C.K. Chung, R. Fan, H.M. Lee, G. Xu, B. Tomlinson, J.C.N. Chan, A.P.S. Kong, Sirt3 deficiency increased the vulnerability of pancreatic beta cells to oxidative stress-induced dysfunction, *Antioxid. Redox Signal.* 27 (2017) 962–976.
- [84] B. Schwer, J. Bunkenborg, R.O. Verdin, J.S. Andersen, E. Verdin, Reversible lysine acetylation controls the activity of the mitochondrial enzyme acetyl-CoA synthetase 2, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103 (2006) 10224–10229.
- [85] M.D. Hirschey, T. Shimazu, E. Goetzman, E. Jing, B. Schwer, D.B. Lombard, C.A. Grueter, C. Harris, S. Biddinger, O.R. Ilkayeva, R.D. Stevens, Y. Li, A.K. Saha, N.B. Ruderman, J.R. Bain, C.B. Newgard, R.V. Farese Jr., F.W. Alt, C.R. Kahn, E. Verdin, SIRT3 regulates mitochondrial fatty-acid oxidation by reversible enzyme deacetylation, *Nature* 464 (2010) 121–125.
- [86] H. Cimen, M.J. Han, Y. Yang, Q. Tong, H. Koc, E.C. Koc, Regulation of succinate dehydrogenase activity by SIRT3 in mammalian mitochondria, *Biochemistry* 49 (2010) 304–311.
- [87] L.W. Finley, W. Haas, V. Desquiere-Dumas, D.C. Wallace, V. Procaccio, S.P. Gygi, M.C. Haigis, Succinate dehydrogenase is a direct target of sirtuin 3 deacetylase activity, *PLoS One* 6 (2011) e23295.
- [88] S. Someya, W. Yu, W.C. Hallows, J. Xu, J.M. Vann, C. Leeuwenburgh, M. Tanokura, J.M. Denu, T.A. Prolla, SIRT3 mediates reduction of oxidative damage and prevention of age-related hearing loss under caloric restriction, *Cell* 143 (2010) 802–812.
- [89] X. Qiu, K. Brown, M.D. Hirschey, E. Verdin, D. Chen, Calorie restriction reduces oxidative stress by SIRT3-mediated SOD2 activation, *Cell Metab.* 12 (2010) 662–667.
- [90] R. Tao, M.C. Coleman, J.D. Pennington, O. Ozden, S.H. Park, H. Jiang, H.S. Kim, C.R. Flynn, S. Hill, W. Hayes McDonald, A.K. Olivier, D.R. Spitz, D. Gius, Sirt3-mediated deacetylation of evolutionarily conserved lysine 122 regulates MnSOD activity in response to stress, *Mol. Cell* 40 (2010) 893–904.
- [91] J. Ouyang, Z. Zeng, H. Fang, F. Li, X. Zhang, W. Tan, SIRT3 inactivation promotes acute kidney injury through elevated acetylation of SOD2 and p53, *J. Surg. Res.* 233 (2019) 221–230.
- [92] N.R. Sundaresan, M. Gupta, G. Kim, S.B. Rajamohan, A. Isbatan, M.P. Gupta, Sirt3 blocks the cardiac hypertrophic response by augmenting Foxo3a-dependent antioxidant defense mechanisms in mice, *J. Clin. Invest.* 119 (2009) 2758–2771.
- [93] H. Z., S.A. Samant, Z. Hong, V.B. Pillai, N.R. Sundaresan, D. Wolfgeher, S.L. Archer, D.C. Chan, M.P. Gupta, SIRT3 deacetylates and activates OPA1 to regulate mitochondrial dynamics during stress, *Mol. Cell. Biol.* 5 (2014) 807–819.
- [94] M. Morigi, L. Perico, C. Rota, L. Longaretti, S. Conti, D. Rottoli, R. Novelli, G. Remuzzi, A. Benigni, Sirtuin 3-dependent mitochondrial dynamic improvements protect against acute kidney injury, *J. Clin. Invest.* 125 (2015) 715–726.
- [95] M. Chang, B. Zhang, Y. Tian, M. Hu, G. Zhang, Z. Di, X. Wang, Z. Liu, N. Gu, Y. Liu, AGES decreased SIRT3 expression and SIRT3 activation protected AGES-induced EPCs' dysfunction and strengthened anti-oxidant capacity, *Inflammation* 40 (2017) 473–485.
- [96] T. Koyama, S. Kume, D. Koya, S. Araki, K. Isshiki, M. Chin-Kanasaki, T. Sugimoto, M. Haneda, T. Sugaya, A. Kashiwagi, H. Maegawa, T. Uzu, SIRT3 attenuates palmitate-induced ROS production and inflammation in proximal tubular cells, *Free Radic. Biol. Med.* 51 (2011) 1258–1267.
- [97] S.P. Srivastava, J. Li, M. Kitada, H. Fujita, Y. Yamada, J.E. Goodwin, K. Kanasaki, D. Koya, SIRT3 deficiency leads to induction of abnormal glycolysis in diabetic kidney with fibrosis, *Cell Death Dis.* 9 (2018) 997.
- [98] S. Li, X. Dou, H. Ning, Q. Song, W. Wei, X. Zhang, C. Shen, J. Li, C. Sun, Z. Song, Sirtuin 3 acts as a negative regulator of autophagy dictating hepatocyte susceptibility to lipotoxicity, *Hepatology (Baltimore, Md.)* 66 (2017) 936–952.
- [99] W. Zhao, L. Zhang, R. Chen, H. Lu, M. Sui, Y. Zhu, L. Zeng, SIRT3 protects against acute kidney injury via AMPK/mTOR-regulated autophagy, *Front. Physiol.* 9 (2018) 1526.
- [100] Z. Min, J. Gao, Y. Yu, The roles of mitochondrial SIRT4 in cellular metabolism, *Front Endocrinol (Lausanne)* 9 (2018) 783.
- [101] M.C. Haigis, R. Mostoslavsky, K.M. Haigis, K. Fahie, D.C. Christodoulou, A.J. Murphy, D.M. Valenzuela, G.D. Yancopoulos, M. Karow, G. Blander, C. Wolberger, T.A. Prolla, R. Weindruch, F.W. Alt, L. Guarente, SIRT4 inhibits glutamate dehydrogenase and opposes the effects of calorie restriction in pancreatic beta cells, *Cell* 126 (2006) 941–954.
- [102] N. Ahuja, B. Schwer, S. Carobbio, D. Waltregny, B.J. North, V. Castronovo, P. Maechler, E. Verdin, Regulation of insulin secretion by SIRT4, a mitochondrial ADP-ribosyltransferase, *J. Biol. Chem.* 282 (2007) 33583–33592.
- [103] K.A. Anderson, F.K. Huynh, K. Fisher-Wellman, J.D. Stuart, B.S. Peterson, J.D. Douros, G.R. Wagner, J.W. Thompson, A.S. Madsen, M.F. Green, R.M. Sivley, O.R. Ilkayeva, R.D. Stevens, D.S. Backos, J.A. Capra, C.A. Olsen, J.E. Campbell, D.M. Muoio, P.A. Grimsrud, M.D. Hirschey, SIRT4 is a lysine deacetylase that controls leucine metabolism and insulin secretion, *Cell Metab.* 25 (2017) 838–855.e815.
- [104] G. Laurent, V.C. de Boer, L.W. Finley, M. Sweeney, H. Lu, T.T. Schug, Y. Cen, S.M. Jeong, X. Li, A.A. Sauve, M.C. Haigis, SIRT4 represses peroxisome proliferator-activated receptor alpha activity to suppress hepatic fat oxidation, *Mol. Cell. Biol.* 33 (2013) 4552–4561.
- [105] L. Ho, A.S. Titus, K.K. Banerjee, S. George, W. Lin, S. Deota, A.K. Saha, K. Nakamura, P. Gut, E. Verdin, U. Kolthur-Seetharam, SIRT4 regulates ATP homeostasis and mediates a retrograde signaling via AMPK, *Aging* 5 (2013) 835–849.
- [106] N. Nasrin, X. Wu, E. Fortier, Y. Feng, O.C. Bare, S. Chen, X. Ren, Z. Wu, R.S. Streeper, L. Bordone, SIRT4 regulates fatty acid oxidation and mitochondrial gene expression in liver and muscle cells, *J. Biol. Chem.* 285 (2010) 31995–32002.
- [107] Y. Tao, C. Huang, Y. Huang, L. Hong, H. Wang, Z. Zhou, Y. Qiu, SIRT4 suppresses

- inflammatory responses in human umbilical vein endothelial cells, *Cardiovasc. Toxicol.* 15 (2015) 217–223.
- [108] Y. Tao, S. Yu, M. Chao, Y. Wang, J. Xiong, H. Lai, SIRT4 suppresses the PI3K/Akt/NFκappaB signaling pathway and attenuates HUVEC injury induced by oxLDL, *Mol. Med. Rep.* 19 (2019) 4973–4979.
- [109] J.X. Shi, Q.J. Wang, H. Li, Q. Huang, SIRT4 overexpression protects against diabetic nephropathy by inhibiting podocyte apoptosis, *Experimental and Therapeutic Medicine* 13 (2017) 342–348.
- [110] R. Song, W. Xu, Y. Chen, Z. Li, Y. Zeng, Y. Fu, The expression of Sirtuins 1 and 4 in peripheral blood leukocytes from patients with type 2 diabetes, *Eur. J. Histochem.* 55 (2011) e10.
- [111] M. Gertz, C. Steegborn, Function and regulation of the mitochondrial sirtuin isoform Sirt5 in mammalia, *Biochim. Biophys. Acta* 1804 (2010) 1658–1665.
- [112] T. Nakagawa, D.J. Lomb, M.C. Haigis, L. Guarente, SIRT5 deacetylates carbamoyl phosphate synthetase 1 and regulates the urea cycle, *Cell* 137 (2009) 560–570.
- [113] M. Ogura, Y. Nakamura, D. Tanaka, X. Zhuang, Y. Fujita, A. Obara, A. Hamasaki, M. Hosokawa, N. Inagaki, Overexpression of SIRT5 confirms its involvement in deacetylation and activation of carbamoyl phosphate synthetase 1, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 393 (2010) 73–78.
- [114] Z. L., C. Peng, Z. Xie, Z. Cheng, Y. Chen, M. Tan, H. Luo, Y. Zhang, W. He, K. Yang, B.M. Zwaans, D. Tishkoff, L. Ho, D. Lombard, T.C. He, J. Dai, E. Verdin, Y. Ye, Y. Zhao, The first identification of lysine malonylation substrates and its regulatory enzyme, *Mol. Cell. Proteomics* 10 (2011) (M111.012658).
- [115] J. Du, Y. Zhou, X. Su, J.J. Yu, S. Khan, H. Jiang, J. Kim, J. Woo, J.H. Kim, B.H. Choi, B. He, W. Chen, S. Zhang, R.A. Cerione, J. Auwerx, Q. Hao, H. Lin, Sirt5 is a NAD-dependent protein lysine demalonylase and desuccinylase, *Science* 334 (2011) 806–809.
- [116] M.J. Rardin, W. He, Y. Nishida, J.C. Newman, C. Carrico, S.R. Danielson, A. Guo, P. Gut, A.K. Sahu, B. Li, R. Uppala, M. Fitch, T. Riiff, L. Zhu, J. Zhou, D. Mulhern, R.D. Stevens, O.R. Ilkayeva, C.B. Newgard, M.P. Jacobson, M. Hellerstein, E.S. Goetzman, B.W. Gibson, E. Verdin, SIRT5 regulates the mitochondrial lysine succinylome and metabolic networks, *Cell Metab.* 18 (2013) 920–933.
- [117] Y. Nishida, M.J. Rardin, C. Carrico, W. He, A.K. Sahu, P. Gut, R. Najjar, M. Fitch, M. Hellerstein, B.W. Gibson, E. Verdin, SIRT5 regulates both cytosolic and mitochondrial protein malonylation with glycolysis as a major target, *Mol. Cell* 59 (2015) 321–332.
- [118] S. Sadhukhan, X. Liu, D. Ryu, O.D. Nelson, J.A. Stupinski, Z. Li, W. Chen, S. Zhang, R.S. Weiss, J.W. Locasale, J. Auwerx, H. Lin, Metabolomics-assisted proteomics identifies succinylation and SIRT5 as important regulators of cardiac function, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 113 (2016) 4320–4325.
- [119] Y. Zhang, S.S. Bharathi, M.J. Rardin, R. Uppala, E. Verdin, B.W. Gibson, E.S. Goetzman, SIRT3 and SIRT5 regulate the enzyme activity and cardioprotein binding of very long-chain acyl-CoA dehydrogenase, *PLoS One* 10 (2015) e0122297.
- [120] J. Yu, S. Sadhukhan, L.G. Noriega, N. Moullan, B. He, R.S. Weiss, H. Lin, K. Schoonjans, J. Auwerx, Metabolic characterization of a Sirt5 deficient mouse model, *Sci. Rep.* 3 (2013) 2806.
- [121] N.L. Bentley, C.E. Fiveash, B. Osborne, L.E. Quek, M. Ogura, N. Inagaki, G.J. Cooney, P. Polly, M.K. Montgomery, N. Turner, Protein hypoacetylation induced by Sirt5 overexpression has minimal metabolic effect in mice, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 503 (2018) 1349–1355.
- [122] Y. Du, H. Hu, S. Qu, J. Wang, C. Hua, J. Zhang, P. Wei, X. He, J. Hao, P. Liu, F. Yang, T. Li, T. Wei, SIRT5 deacetylates metabolism-related proteins and attenuates hepatic steatosis in ob/ob mice, *EBioMedicine* 36 (2018) 347–357.
- [123] Y. Ma, X. Fei, SIRT5 regulates pancreatic beta-cell proliferation and insulin secretion in type 2 diabetes, *Experimental and Therapeutic Medicine* 16 (2018) 1417–1425.
- [124] Y. Wang, Q. Liu, Y. Huan, R. Li, C. Li, S. Sun, N. Guo, M. Yang, S. Liu, Z. Shen, Sirtuin 5 overexpression attenuates glucolipotoxicity-induced pancreatic beta cells apoptosis and dysfunction, *Exp. Cell Res.* 371 (2018) 205–213.
- [125] J. Park, Y. Chen, D.X. Tishkoff, C. Peng, M. Tan, L. Dai, Z. Xie, Y. Zhang, B.M. Zwaans, M.E. Skinner, D.B. Lombard, Y. Zhao, SIRT5-mediated lysine desuccinylation impacts diverse metabolic pathways, *Mol. Cell* 50 (2013) 919–930.
- [126] Y.S. Xu, J.J. Liang, Y. Wang, X.J. Zhao, L. Xu, Y.Y. Xu, Q.C. Zou, J.M. Zhang, C.E. Tu, Y.G. Cui, W.H. Sun, C. Huang, J.H. Yang, Y.E. Chin, STAT3 undergoes acetylation-dependent mitochondrial translocation to regulate pyruvate metabolism, *Sci. Rep.* 6 (2016) 39517.
- [127] L. Zhou, F. Wang, R. Sun, X. Chen, M. Zhang, Q. Xu, Y. Wang, S. Wang, Y. Xiong, K.L. Guan, P. Yang, H. Yu, D. Ye, SIRT5 promotes IDH2 desuccinylation and G6PD deglutarylation to enhance cellular antioxidant defense, *EMBO Rep.* 17 (2016) 811–822.
- [128] M. Buler, S.M. Aatsinki, V. Izzi, J. Uusimaa, J. Hakola, SIRT5 is under the control of PGC-1α and AMPK and is involved in regulation of mitochondrial energy metabolism, *FASEB J.* 28 (2014) 3225–3237.
- [129] F. Wang, K. Wang, W. Xu, S. Zhao, D. Ye, Y. Wang, Y. Xu, L. Zhou, Y. Chu, C. Zhang, X. Qin, P. Yang, H. Yu, SIRT5 desuccinylates and activates pyruvate kinase M2 to block macrophage IL-1β production and to prevent DSS-induced colitis in mice, *Cell Rep.* 19 (2017) 2331–2344.
- [130] K. Qin, C. Han, H. Zhang, T. Li, N. Li, X. Cao, NAD(+) dependent deacetylase Sirtuin 5 rescues the innate inflammatory response of endotoxin tolerant macrophages by promoting acetylation of p65, *J. Autoimmun.* 81 (2017) 120–129.
- [131] L. Polletta, E. Vernucci, L. Carnevale, T. Arcangeli, D. Rotili, S. Palmerio, C. Steegborn, T. Nowak, M. Schutkowski, L. Pellegrini, L. Sansone, L. Villanova, A. Runci, B. Pucci, E. Morgante, M. Fini, A. Mai, M.A. Russo, M. Tafani, SIRT5 regulation of ammonia-induced autophagy and mitophagy, *Autophagy* 11 (2015) 253–270.
- [132] G. Liszt, E. Ford, M. Kurtev, L. Guarente, Mouse Sir2 homolog SIRT6 is a nuclear ADP-ribosyltransferase, *J. Biol. Chem.* 280 (2005) 21313–21320.
- [133] H.S. Kim, C. Xiao, R.H. Wang, T. Lahusen, X. Xu, A. Vassilopoulos, G. Vazquez-Ortiz, W.I. Jeong, O. Park, S.H. Ki, B. Gao, C.X. Deng, Hepatic-specific disruption of SIRT6 in mice results in fatty liver formation due to enhanced glycolysis and triglyceride synthesis, *Cell Metab.* 12 (2010) 224–236.
- [134] L. Zhong, A. D'Urso, D. Toiber, C. Sebastian, R.E. Henry, D.D. Vadysirisack, A. Guimaraes, B. Marinelli, J.D. Wikstrom, T. Nir, C.B. Clish, B. Vaitheeswaran, O. Iliopoulos, I. Kurland, Y. Dor, R. Weissleder, O.S. Shirihai, L.W. Ellisen, J.M. Espinosa, R. Mostoslavsky, The histone deacetylase Sirt6 regulates glucose homeostasis via Hif1α, *Cell* 140 (2010) 280–293.
- [135] J.E. Dominy Jr., Y. Lee, M.P. Jedrychowski, H. Chim, M.J. Jurczak, J.P. Camporez, H.B. Ruan, J. Feldman, K. Pierce, R. Mostoslavsky, J.M. Denu, C.B. Clish, X. Yang, G.I. Shulman, S.P. Gygi, P. Puigserver, The deacetylase Sirt6 activates the acetyltransferase GCN5 and suppresses hepatic gluconeogenesis, *Mol. Cell* 48 (2012) 900–913.
- [136] J.G. Anderson, G. Ramadori, R.M. Ioris, M. Galie, E.D. Berglund, K.C. Coate, T. Fujikawa, S. Pucciarelli, B. Moreschini, A. Amici, C. Andreani, R. Coppari, Enhanced insulin sensitivity in skeletal muscle and liver by physiological overexpression of SIRT6, *Molecular Metabolism* 4 (2015) 846–856.
- [137] X. Xiong, G. Wang, R. Tao, P. Wu, T. Kono, K. Li, W.X. Ding, X. Tong, S.A. Tersey, R.A. Harris, R.G. Mirmira, C. Evans-Molina, X.C. Dong, Sirtuin 6 regulates glucose-stimulated insulin secretion in mouse pancreatic beta cells, *Diabetologia* 59 (2016) 151–160.
- [138] J. Kuang, Y. Zhang, Q. Liu, J. Shen, S. Pu, S. Cheng, L. Chen, H. Li, T. Wu, R. Li, Y. Li, M. Zou, Z. Zhang, W. Jiang, G. Xu, A. Qu, W. Xie, J. He, Fat-specific Sirt6 ablation sensitizes mice to high-fat diet-induced obesity and insulin resistance by inhibiting lipolysis, *Diabetes* 66 (2017) 1159–1171.
- [139] Y. Kanfi, S. Naiman, G. Amir, V. Peshti, G. Zimman, L. Nahum, Z. Bar-Joseph, H.Y. Cohen, The sirtuin SIRT6 regulates lifespan in male mice, *Nature* 483 (2012) 218–221.
- [140] R. Mostoslavsky, K.F. Chua, D.B. Lombard, W.W. Pang, M.R. Fischer, L. Gellon, P. Liu, G. Mostoslavsky, S. Franco, M.M. Murphy, K.D. Mills, P. Patel, J.T. Hsu, A.L. Hong, E. Ford, H.L. Cheng, C. Kennedy, N. Nunez, R. Bronson, D. Frendewey, W. Auerbach, D. Valenzuela, M. Karow, M.O. Hottiger, S. Hursting, J.C. Barrett, L. Guarente, R. Mulligan, B. Demple, G.D. Yancopoulos, F.W. Alt, Genomic instability and aging-like phenotype in the absence of mammalian SIRT6, *Cell* 124 (2006) 315–329.
- [141] T.L. Kawahara, E. Michishita, A.S. Adler, M. Damian, E. Berber, M. Lin, R.A. McCord, K.C. Ongaigui, L.D. Boxer, H.Y. Chang, K.F. Chua, SIRT6 links histone H3 lysine 9 deacetylation to NF-κappaB-dependent gene expression and organismal life span, *Cell* 136 (2009) 62–74.
- [142] C. Xiao, R.H. Wang, T.J. Lahusen, O. Park, A. Bertola, T. Maruyama, D. Reynolds, Q. Chen, X. Xu, H.A. Young, W.J. Chen, B. Gao, C.X. Deng, Progression of chronic liver inflammation and fibrosis driven by activation of c-JUN signaling in Sirt6 mutant mice, *J. Biol. Chem.* 287 (2012) 41903–41913.
- [143] M.Y. Cheng, Y.W. Cheng, J. Yan, X.Q. Hu, H. Zhang, Z.R. Wang, Q. Yin, W. Cheng, SIRT6 suppresses mitochondrial defects and cell death via the NF-κappaB pathway in myocardial hypoxia/reoxygenation induced injury, *Am. J. Transl. Res.* 8 (2016) 5005–5015.
- [144] E. Michishita, R.A. McCord, L.D. Boxer, M.F. Barber, T. Hong, O. Gozani, K.F. Chua, Cell cycle-dependent deacetylation of telomeric histone H3 lysine K56 by human SIRT6, *Cell Cycle* 8 (2009) 2664–2666.
- [145] Z. Caliskan, T. Mutlu, M. Guven, M. Tuncdemir, M. Niyazoglu, Y. Hacıoglu, Y. Dincer, SIRT6 expression and oxidative DNA damage in individuals with pre-diabetes and type 2 diabetes mellitus, *Gene* 642 (2018) 542–548.
- [146] S. Masri, P. Rigor, M. Cervantes, N. Ceglia, C. Sebastian, C. Xiao, M. Roqueta-Rivera, C. Deng, T.F. Osborne, R. Mostoslavsky, P. Baldi, P. Sassone-Corsi, Partitioning circadian transcription by SIRT6 leads to segregated control of cellular metabolism, *Cell* 158 (2014) 659–672.
- [147] X. Cui, L. Yao, X. Yang, Y. Gao, F. Fang, J. Zhang, Q. Wang, Y. Chang, SIRT6 regulates metabolic homeostasis in skeletal muscle through activation of AMPK, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 313 (2017) E493–e505.
- [148] Y. Lee, S.O. Ka, H.N. Cha, Y.N. Chae, M.K. Kim, S.Y. Park, E.J. Bae, B.H. Park, Myeloid sirtuin 6 deficiency causes insulin resistance in high-fat diet-fed mice by eliciting macrophage polarization toward an M1 phenotype, *Diabetes* 66 (2017) 2659–2668.
- [149] P. Zhang, B. Tu, H. Wang, Z. Cao, M. Tang, C. Zhang, B. Gu, Z. Li, L. Wang, Y. Yang, Y. Zhao, H. Wang, J. Luo, C.X. Deng, B. Gao, R.G. Roeder, W.G. Zhu, Tumor suppressor p53 cooperates with SIRT6 to regulate gluconeogenesis by promoting FoxO1 nuclear exclusion, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 111 (2014) 10684–10689.
- [150] J. Feng, P.F. Yan, H.Y. Zhao, F.C. Zhang, W.H. Zhao, M. Feng, SIRT6 suppresses glioma cell growth via induction of apoptosis, inhibition of oxidative stress and suppression of JAK2/STAT3 signaling pathway activation, *Oncol. Rep.* 35 (2016) 1395–1402.
- [151] H. Pan, D. Guan, X. Liu, J. Li, L. Wang, J. Wu, J. Zhou, W. Zhang, R. Ren, W. Zhang, Y. Li, J. Yang, Y. Hao, T. Yuan, G. Yuan, H. Wang, Z. Ju, Z. Mao, J. Li, J. Qu, F. Tang, G.H. Liu, SIRT6 safeguards human mesenchymal stem cells from oxidative stress by coactivating NRF2, *Cell Res.* 26 (2016) 190–205.
- [152] R. Liu, H. Liu, Y. Ha, R.G. Tilton, W. Zhang, Oxidative stress induces endothelial cell senescence via downregulation of Sirt6, *Biomed. Res. Int.* 2014 (2014) 902842.
- [153] M.L. Balestrieri, M.R. Rizzo, M. Barbieri, P. Paolesso, N. D'Onofrio, A. Giovane, M. Siniscalchi, F. Minicucci, C. Sardu, D. D'Andrea, C. Mauro, F. Ferraraccio, L. Servillo, F. Chirico, P. Caiazzo, G. Paolesso, R. Marfella, Sirtuin 6 expression and

- inflammatory activity in diabetic atherosclerotic plaques: effects of incretin treatment, *Diabetes* 64 (2015) 1395–1406.
- [154] M. Liu, K. Liang, J. Zhen, M. Zhou, X. Wang, Z. Wang, X. Wei, Y. Zhang, Y. Sun, Z. Zhou, H. Su, C. Zhang, N. Li, C. Gao, J. Peng, F. Yi, Sirt6 deficiency exacerbates podocyte injury and proteinuria through targeting Notch signaling, *Nat. Commun.* 8 (2017) 413.
- [155] Y. Fan, Q. Yang, Y. Yang, Z. Gao, Y. Ma, L. Zhang, W. Liang, G. Ding, Sirt6 suppresses high glucose-induced mitochondrial dysfunction and apoptosis in podocytes through AMPK activation, *Int. J. Biol. Sci.* 15 (2019) 701–713.
- [156] L. Ji, Y. Chen, H. Wang, W. Zhang, L. He, J. Wu, Y. Liu, Overexpression of Sirt6 promotes M2 macrophage transformation, alleviating renal injury in diabetic nephropathy, *Int. J. Oncol.* 55 (2019) 103–115.
- [157] E. Ford, R. Voit, G. Liszt, C. Magin, I. Grummt, L. Guarente, Mammalian Sir2 homolog SIRT7 is an activator of RNA polymerase I transcription, *Genes Dev.* 20 (2006) 1075–1080.
- [158] B.L. Tang, SIRT7 and hepatic lipid metabolism, *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 3 (2015) 1.
- [159] O. Vakhrusheva, D. Braeuer, Z. Liu, T. Braun, E. Bober, Sirt7-dependent inhibition of cell growth and proliferation might be instrumental to mediate tissue integrity during aging, *Journal of Physiology and Pharmacology: An Official Journal of the Polish Physiological Society* 59 (Suppl. 9) (2008) 201–212.
- [160] S. Malik, L. Villanova, S. Tanaka, M. Aonuma, N. Roy, E. Berber, J.R. Pollack, E. Michishita-Kioi, K.F. Chua, SIRT7 inactivation reverses metastatic phenotypes in epithelial and mesenchymal tumors, *Sci. Rep.* 5 (2015) 9841.
- [161] S. Paredes, K.F. Chua, SIRT7 clears the way for DNA repair, *EMBO J.* 35 (2016) 1483–1485.
- [162] T. Yoshizawa, M.F. Karim, Y. Sato, T. Senokuchi, K. Miyata, T. Fukuda, C. Go, M. Tasaki, K. Uchimura, T. Kadomatsu, Z. Tian, C. Smolka, T. Sawa, M. Takeya, K. Tomizawa, Y. Ando, E. Araki, T. Akaike, T. Braun, Y. Oike, E. Bober, K. Yamagata, SIRT7 controls hepatic lipid metabolism by regulating the ubiquitin-proteasome pathway, *Cell Metab.* 19 (2014) 712–721.
- [163] A. Wronska, A. Lawniczak, P.M. Wierzbicki, Z. Kmiec, Age-related changes in sirtuin 7 expression in calorie-restricted and refed rats, *Gerontology* 62 (2016) 304–310.
- [164] Y. Miyasato, T. Yoshizawa, Y. Sato, T. Nakagawa, Y. Miyasato, Y. Kakizoe, T. Kuwabara, M. Adachi, A. Ianni, T. Braun, Y. Komohara, M. Mukoyama, K. Yamagata, Sirtuin 7 deficiency ameliorates cisplatin-induced acute kidney injury through regulation of the inflammatory response, *Sci. Rep.* 8 (2018) 5927.
- [165] D. Ryu, Y.S. Jo, G. Lo Sasso, S. Stein, H. Zhang, A. Perino, J.U. Lee, M. Zeviani, R. Romand, M.O. Hottiger, K. Schoonjans, J. Auwerx, A SIRT7-dependent acetylation switch of GABPbeta1 controls mitochondrial function, *Cell Metab.* 20 (2014) 856–869.
- [166] M. Mohrin, J. Shin, Y. Liu, K. Brown, H. Luo, Y. Xi, C.M. Haynes, D. Chen, Stem cell aging. A mitochondrial UPR-mediated metabolic checkpoint regulates hematopoietic stem cell aging, *Science* 347 (2015) 1374–1377.
- [167] J.G. Wood, B. Rogina, S. Lavu, K. Howitz, S.L. Helfand, M. Tatar, D. Sinclair, Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans, *Nature* 430 (2004) 686–689.
- [168] P. Brasnyo, G.A. Molnar, M. Mohas, L. Marko, B. Laczky, J. Cseh, E. Mikolas, I.A. Szijarto, A. Meri, R. Halmi, L.G. Meszaros, B. Sumegi, I. Wittmann, Resveratrol improves insulin sensitivity, reduces oxidative stress and activates the Akt pathway in type 2 diabetic patients, *Br. J. Nutr.* 106 (2011) 383–389.
- [169] M. Lagouge, C. Argmann, Z. Gerhart-Hines, H. Meziane, C. Lerin, F. Daussin, N. Messadeq, J. Milne, P. Lambert, P. Elliott, B. Geny, M. Laakso, P. Puigserver, J. Auwerx, Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha, *Cell* 127 (2006) 1109–1122.
- [170] T. Zhang, Y. Chi, Y. Ren, C. Du, Y. Shi, Y. Li, Resveratrol reduces oxidative stress and apoptosis in podocytes via Sir2-related enzymes, Sirtuins1 (SIRT1)/peroxisome proliferator-activated receptor gamma co-activator 1alpha (PGC-1alpha) axis, *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical research* 25 (2019) 1220–1231.
- [171] B.T. Tung, E. Rodriguez-Bies, E. Talero, E. Gamero-Estevez, V. Motilva, P. Navas, G. Lopez-Lluch, Anti-inflammatory effect of resveratrol in old mice liver, *Exp. Gerontol.* 64 (2015) 1–7.
- [172] J.C. Milne, P.D. Lambert, S. Schenk, D.P. Carney, J.J. Smith, D.J. Gagne, L. Jin, O. Boss, R.B. Perni, C.B. Vu, J.E. Bemis, R. Xie, J.S. Disch, P.Y. Ng, J.J. Nunes, A.V. Lynch, H. Yang, H. Galonek, K. Israelian, W. Choy, A. Iffland, S. Lavu, O. Medvedik, D.A. Sinclair, J.M. Olefsky, M.R. Jirousek, P.J. Elliott, C.H. Westphal, Small molecule activators of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes, *Nature* 450 (2007) 712–716.
- [173] J.J. Smith, R.D. Kenney, D.J. Gagne, B.P. Frushour, W. Ladd, H.L. Galonek, K. Israelian, J. Song, G. Razvadauskaite, A.V. Lynch, D.P. Carney, R.J. Johnson, S. Lavu, A. Iffland, P.J. Elliott, P.D. Lambert, K.O. Elliston, M.R. Jirousek, J.C. Milne, O. Boss, Small molecule activators of SIRT1 replicate signaling pathways triggered by calorie restriction in vivo, *BMC Syst. Biol.* 3 (2009) 31.
- [174] S.J. Park, F. Ahmad, J.H. Um, A.L. Brown, X. Xu, H. Kang, H. Ke, X. Feng, J. Ryall, A. Philp, S. Schenk, M.K. Kim, V. Sartorelli, J.H. Chung, Specific Sirt1 activator-mediated improvement in glucose homeostasis requires Sirt1-independent activation of AMPK, *EBioMedicine* 18 (2017) 128–138.
- [175] Y. Ren, C. Du, Y. Shi, J. Wei, H. Wu, H. Cui, The Sirt1 activator, SRT1720, attenuates renal fibrosis by inhibiting CTGF and oxidative stress, *Int. J. Mol. Med.* 39 (2017) 1317–1324.
- [176] Q. Hong, L. Zhang, B. Das, Z. Li, B. Liu, G. Cai, X. Chen, P.Y. Chuang, J.C. He, K. Lee, Increased podocyte Sirtuin-1 function attenuates diabetic kidney injury, *Kidney Int.* 93 (2018) 1330–1343.
- [177] V.B. Pillai, S. Samant, N.R. Sundaresan, H. Raghuraman, G. Kim, M.Y. Bonner, J.L. Arbiser, D.I. Walker, D.P. Jones, D. Gius, M.P. Gupta, Honokiol blocks and reverses cardiac hypertrophy in mice by activating mitochondrial Sirt3, *Nat. Commun.* 6 (2015) 6656.
- [178] V.B. Pillai, A. Kanwal, Y.H. Fang, W.W. Sharp, S. Samant, J. Arbiser, M.P. Gupta, Honokiol, an activator of Sirtuin-3 (SIRT3) preserves mitochondria and protects the heart from doxorubicin-induced cardiomyopathy in mice, *Oncotarget* 8 (2017) 34082–34098.

日中笹川医学奨学金制度 (学位取得コース) 評価書

課程博士：指導教官用



第 41 期

研究者番号： G4108

作成日： 2021 年 3 月 日

氏名	盧 雪婧	LU XUEJING	性別	F	生年月日	1993. 01. 14
所属機関 (役職)	京都大学大学院医学系研究科糖尿病・内分泌・栄養内科学 (博士課程大学院生)					
研究先 (指導教官)	京都大学大学院医学系研究科糖尿病・内分泌・栄養内科学 (稲垣 暢也教授)					
研究テーマ	脂肪摂食後 GIP 分泌のメカニズム The mechanism of GIP secretion after fat ingestion					
専攻種別	<input type="checkbox"/> 論文博士			<input checked="" type="checkbox"/> 課程博士		

研究者評価 (指導教官記入欄)

成績状況	優 良 可 不可 学業成績係数= 優	取得単位数
		32 単位 / 32 単位
学生本人が行った研究の概要	<p>消化管ホルモンである GIP の過分泌は高脂肪食摂取時の肥満やインスリン抵抗性を誘導する反面、薬理的な GIP の作用は、中枢神経を介して食欲抑制に作用する。盧氏は pLIVE (Liver In Vivo Expression) Vector に GIP 遺伝子を導入し GIP 高発現プラスミド (pLIVE-GIP Vector) を作製した。そしてマウスへの尾静脈注射により GIP 過剰分泌するマウスの作製に成功した。20 μg pLIVE-GIP Vector を投与したマウスでは、血中 GIP 濃度がコントロールマウスに比較して約 20 倍高かった。またこの状態は Vector 投与後 2 か月間持続した。本マウスを通常食摂取下に体重推移を評価したところ、コントロールマウスと比較して有意な差を認めなかったが、投与 1 か月間の摂餌量の低下を認めた。</p>	
総合評価	<p>【良かった点】</p> <ul style="list-style-type: none"> 非常に精力的に実験を行っている。 他の大学院生と良好にコミュニケーションをとっている。 	
	<p>【改善すべき点】</p> <ul style="list-style-type: none"> 既報を熟読して実験手法を正しく理解し、実験計画を立てることが未だ不十分である。 	
	<p>【今後の展望】</p> <p>改善すべき点については、実験指導者が指摘した際に適正に修正できているため、今後の学習によって改善できる可能性が高い。</p>	
学位取得見込	<p>今後は長期の高脂肪食負荷実験を行い、体重や体脂肪量、耐糖能やインスリン感受性について検討していく予定である。実験結果によっては、博士課程年限内での論文化が見込まれる。</p>	

評価者 (指導教官名)

稲垣 暢也



日中笹川医学奨学金制度(学位取得コース)報告書 研究者用



第41期

研究者番号: G4108

作成日: 2021年3月 8日

氏名	Lu Xuejing	盧 雪婧	性別	F	生年月日 1993. 01. 14
所属機関(役職)	京都大学大学院医学系研究科 糖尿病・内分泌・栄養内科学(学生)				
研究先(指導教官)	京都大学大学院医学系研究科 糖尿病・内分泌・栄養内科学(稲垣 暢也教授)				
研究テーマ	脂肪摂食後GIP分泌のメカニズム The mechanism of GIP secretion after fat ingestion				
専攻種別	論文博士	<input type="checkbox"/>	課程博士	<input checked="" type="checkbox"/>	
<p>1. 研究概要(1)</p> <p>1) 目的(Goal)</p> <p>高脂肪食を特徴とする食の欧米化を背景として、軽微な肥満であっても糖尿病を発症する患者が本邦で急増している。「高脂肪食摂取による肥満・インスリン抵抗性増大」の機序解明と対策が喫緊の課題である。食事に含まれる「脂肪」は、炭素鎖(C)14以上の長鎖脂肪酸(long-chain fatty acid [LCFA])で構成される長鎖脂肪酸トリグリセリド(long-chain fatty acid triglyceride: LCT)である。</p> <p>glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP)は、栄養素の刺激によって腸管内分泌K細胞から分泌され、膵β細胞上のGIP受容体(GIPR)を介してインスリン分泌を促進する消化管ホルモン(インクレチン)である。本研究室のこれまでの検討から、GIPは脂肪組織への直接的な作用とインスリンを介した作用で高脂肪食摂取下の肥満とインスリン抵抗性を誘導する(1-3)。LCTによってK細胞からのGIP分泌の亢進を誘導し、GIP分泌亢進の抑制は高LCT食摂取下の肥満やインスリン抵抗性を軽減する(4-5)。GIP分泌亢進の抑制を目的とした栄養素の探索は高脂肪食肥満やインスリン抵抗性改善に有効と考えられる。一方で薬理的なGIP受容体の刺激は、食欲抑制を介して体重減少と耐糖能の改善につながる。よって本研究では、生理的に分泌されるGIP分泌抑制と薬理的な過剰GIP分泌の肥満やインスリン抵抗性改善の効果を検討する。</p> <p>①中鎖脂肪酸トリグリセリド(medium-chain fatty acid triglyceride: MCT)は、C6-12の中鎖脂肪酸(medium-chain fatty acid [MCFA])で構成される経口摂取可能な脂肪である。我々は、MCTの単回投与でGIPが誘導されないこと、MCTの長期摂取時にGIPの過分泌が誘導されない結果、肥満やインスリン抵抗性が誘導されないことを明らかにした(5)。しかし、GIPを産生するK細胞の詳細な解析は行われず、K細胞の特性は不明である。そこで我々はMCTの長期摂取時がK細胞に及ぼす影響について検討する。</p> <p>②非生理的なGIP分泌過剰モデルを貴方の手法(6)を用いて作製し、肥満やインスリン抵抗性への影響を検討する。</p> <p>2) 戦略(Approach)</p> <p>①これまでin vivoでのK細胞は、肉眼で腸管上皮細胞と識別不可能であるため、K細胞の正確な評価と解析が困難であった。そこで我々は、GIP遺伝子に緑色蛍光タンパクでGFPを組み込んだK細胞可視化マウスを以前に作成し(7)、本研究に用いることで詳細なK細胞解析を可能とした。</p> <p>②pLIVE(Liver In Vivo Expression) VectorにGIP遺伝子を導入したGIP高発現プラスミド(pLIVE-GIPVector)を作製し、野生型マウスに投与してGIP過剰発現マウスを作製する。</p> <p>3) 方法</p> <p>通常食(10%ラードオイル)、MCT食(45%MCTオイル)、LCT食(45%ラードオイル)を用いてK細胞を蛍光緑色タンパクで可視化した6週齢GIP-GFP knock-inヘテロマウスに長期負荷を行う。また野生型マウスとGIP過剰発現マウスに対して2か月間観察する。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・体重推移+食事摂取量の評価 ・経口ブドウ糖負荷試験(OGTT), 経口コーンオイル負荷試験(OCTT)負荷時のGIP血中濃度 <p>1. 研究概要(2)</p> <p>4) 結果(Results)</p> <p>①負荷12週間後の体重は、高LCT食マウスで最も体重が増加し、通常(CD)食マウスと比較して40.9%の増加だった。高MCT食マウスはCDマウスと比較して24.5%の有意な体重増加を認めしたが、高LCT食マウスと比較して有意に減少した。OGTT中の血糖値は3群間で有意な差を認めなかった。GIP血中濃度は、高</p>					

MCT食マウスはCD食マウスに比較して有意に高値を示したが、高LCT食マウスと有意な差を認めなかった。OCTT中のGIP血中濃度は、高LCT食マウス、通常食マウスに比較してMCT食マウスで最も高かった。OGTTおよびOCTT中のインスリンは、高LCT食マウスで高かった。以上から、高MCT食の摂取は、高LCT食の摂取に比較して体重増加は少ないが、糖や脂肪の摂取時のGIP分泌が、CD食マウスと比較してそれぞれ同等、有意に高くなることが示された。小腸上皮から単離されたK細胞における高MCT食マウスのGIP遺伝子発現量はCD食マウスに比較して低かった。またGIPの転写因子Pdx1の遺伝子発現量はCD食マウスと高MCTマウスの間で同等であった。脂肪摂取後のGIP分泌に必須である脂肪酸受容体GPR40とGPR120の発現量は両マウスのK細胞間で有意な差を認めなかった。

②GIP過剰分泌マウスでは、血中GIP濃度がコントロールマウスに比較して約20倍高かった。またGIP分泌過剰は2か月間持続した。本マウスを通常食摂取下に体重推移を評価したところ、コントロールマウスと比較して有意な差を認めなかったが、投与1か月間の摂餌量の低下を認めた。

5) 考察 (Discussion)

①GIP分泌を誘導しないMCTの長期摂取下では、グルコースに対するGIP分泌は維持されており、また脂肪に対するGIP分泌亢進を認めた。高MCT食マウスのK細胞でGIP遺伝子発現の低下を認めたため、GIP発現に関わる転写因子Pdx1(8)の発現を評価したが低下を認めなかった。以上から、Pdx1以外の転写因子が関与している可能性がある。脂肪摂取後のGIP分泌の亢進を認めたため、K細胞における脂肪酸感知に必須である脂肪酸受容体GPR40とGPR120(9)の発現量を評価したが、両マウスのK細胞間で有意な差を認めなかった。今後はK細胞内の脂肪酸輸送担体の発現を評価する予定である。②GIP分泌過剰マウスの作製に成功した。今後は長期高脂肪食負荷試験を行って、体重推移とインスリン感受性を評価する。

6) 参考文献 (References)

1. Harada N, Yamada Y, Tsukiyama K, Yamada C, Nakamura Y, Mukai E, Hamasaki A, Liu X, Toyoda K, Seino Y, Inagaki N. A novel GIP receptor splice variant influences GIP sensitivity of pancreatic beta-cells in obese mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008 Jan;294(1):E61-8. Epub 2007 Oct 30
2. Shimazu-Kuwahara S, Harada N, Yamane S, Joo E, Sankoda A, Kieffer TJ, Inagaki N. Attenuated secretion of glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) does not alleviate hyperphagic obesity and insulin resistance in ob/ob mice. *Mol Metab.* 2017 Jan 19;6(3):288-294
3. Joo E, Harada N, Yamane S, Fukushima T, Taura D, Iwasaki K, Sankoda A, Shibue K, Harada T, Suzuki K, Hamasaki A, Inagaki N. Inhibition of Gastric Inhibitory Polypeptide Receptor Signaling in Adipose Tissue Reduces Insulin Resistance and Hepatic Steatosis in High-Fat Diet-Fed Mice. *Diabetes.* 2017 Apr;66(4):868-879
4. Yamane S, Harada N, Hamasaki A, Muraoka A, Joo E, Suzuki K, Nasteska D, Tanaka D, Ogura M, Harashima S, Inagaki N. Effects of glucose and meal ingestion on incretin secretion in Japanese subjects with normal glucose tolerance. *J Diabetes Investig.* 2012 Feb 20;3(1):80-5
5. Nasteska D, Harada N, Suzuki K, Yamane S, Hamasaki A, Joo E, Iwasaki K, Shibue K, Harada T, Inagaki N. Chronic reduction of GIP secretion alleviates obesity and insulin resistance under high-fat diet conditions. *Diabetes.* 2014 Jul;63(7):2332-43
6. Yamashita T, Fujii T, Yamauchi I, Ueda Y, Hirota K, Kanai Y, Yasoda A, Inagaki N. C-Type Natriuretic Peptide Restores Growth Impairment Under Enzyme Replacement in Mice With Mucopolysaccharidosis VII. *Endocrinology.* 2020 Feb 1;161(2):bqaa008
7. Suzuki K, Harada N, Yamane S, et al. Transcriptional regulatory factor X6 (Rfx6) increases gastric inhibitory polypeptide (GIP) expression in enteroendocrine K-cells and is involved in GIP hypersecretion in high fat diet-induced obesity. *J Biol Chem* 2013;288:1929-1938
8. Ikeguchi E, Harada N, Kanemaru Y, Sankoda A, Yamane S, Iwasaki K, Imajo M, Murata Y, Suzuki K, Joo E, Inagaki N. Transcriptional factor Pdx1 is involved in age-related GIP hypersecretion in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2018, 1(315):G272-G282.
9. Sankoda A, Harada N, Kato T, Iwasaki K, Yamane S, Ikeguchi E, Murata Y, Hirasawa A, Inagaki N. Free fatty acid receptors, G protein-coupled receptor 120 and G protein-coupled receptor 40, are essential for oil-induced gastric inhibitory polypeptide secretion. *J Diabetes Investig.* 2019, 10(6):1430-1437.

2. 執筆論文 Publication of thesis ※記載した論文を添付してください。Attach all of the papers listed below.

論文名 1 Title	Gene expression of nutrient-sensing molecules in I cells of CCK reporter male mice					
掲載誌名 Published journal	Journal of Molecular Endocrinology					
	2021 年 1 月	66 巻(号)	11 頁 ~	22 頁	言語 Language	English
第1著者名 First author	Tomoko Kato	第2著者名 Second author	Norio Harada		第3著者名 Third author	Eri Ikeguchi-Ogura
その他著者名 Other authors	Akiko Sankoda, Tomonobu Hatoko, Xuejing Lu, Takuma Yasuda, Shunsuke Yamane and Nobuya Inagaki					
論文名 2 Title						
掲載誌名 Published journal						
	年 月	巻(号)	頁 ~	頁	言語 Language	
第1著者名 First author		第2著者名 Second author			第3著者名 Third author	
その他著者名 Other authors						
論文名 3 Title						
掲載誌名 Published journal						
	年 月	巻(号)	頁 ~	頁	言語 Language	
第1著者名 First author		第2著者名 Second author			第3著者名 Third author	
その他著者名 Other authors						
論文名 4 Title						
掲載誌名 Published journal						
	年 月	巻(号)	頁 ~	頁	言語 Language	
第1著者名 First author		第2著者名 Second author			第3著者名 Third author	
その他著者名 Other authors						
論文名 5 Title						
掲載誌名 Published journal						
	年 月	巻(号)	頁 ~	頁	言語 Language	
第1著者名 First author		第2著者名 Second author			第3著者名 Third author	
その他著者名 Other authors						

3. 学会発表 Conference presentation ※筆頭演者として総会・国際学会を含む主な学会で発表したものを記載してください。

※Describe your presentation as the principal presenter in major academic meetings including general meetings or international meeting

学会名 Conference					
演題 Topic					
開催日 date	年	月	日	開催地 venue	
形式 method	<input type="checkbox"/> 口頭発表 Oral	<input type="checkbox"/> ポスター発表 Poster	言語 Language	<input type="checkbox"/> 日本語	<input type="checkbox"/> 英語 <input type="checkbox"/> 中国語
共同演者名 Co-presenter					
学会名 Conference					
演題 Topic					
開催日 date	年	月	日	開催地 venue	
形式 method	<input type="checkbox"/> 口頭発表 Oral	<input type="checkbox"/> ポスター発表 Poster	言語 Language	<input type="checkbox"/> 日本語	<input type="checkbox"/> 英語 <input type="checkbox"/> 中国語
共同演者名 Co-presenter					
学会名 Conference					
演題 Topic					
開催日 date	年	月	日	開催地 venue	
形式 method	<input type="checkbox"/> 口頭発表 Oral	<input type="checkbox"/> ポスター発表 Poster	言語 Language	<input type="checkbox"/> 日本語	<input type="checkbox"/> 英語 <input type="checkbox"/> 中国語
共同演者名 Co-presenter					
学会名 Conference					
演題 Topic					
開催日 date	年	月	日	開催地 venue	
形式 method	<input type="checkbox"/> 口頭発表 Oral	<input type="checkbox"/> ポスター発表 Poster	言語 Language	<input type="checkbox"/> 日本語	<input type="checkbox"/> 英語 <input type="checkbox"/> 中国語
共同演者名 Co-presenter					

4. 受賞(研究業績) Award (Research achievement)

名称 Award name	国名 Country		受賞年 Year of award	年	月
	国名 Country		受賞年 Year of award	年	月

5. 本研究テーマに関わる他の研究助成金受給 Other research grants concerned with your research theme

受給実績 Receipt record	<input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無
助成機関名称 Funding agency	
助成金名称 Grant name	
受給期間 Supported period	年 月 ~ 年 月
受給額 Amount received	円
受給実績 Receipt record	<input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無
助成機関名称 Funding agency	
助成金名称 Grant name	
受給期間 Supported period	年 月 ~ 年 月
受給額 Amount received	円

6. 他の奨学金受給 Another awarded scholarship

受給実績 Receipt record	<input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無
助成機関名称 Funding agency	
奨学金名称 Scholarship name	
受給期間 Supported period	年 月 ~ 年 月
受給額 Amount received	円

7. 研究活動に関する報道発表 Press release concerned with your research activities

※記載した記事を添付してください。Attach a copy of the article described below

報道発表 Press release	<input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	発表年月日 Date of release	
発表機関 Released medium			
発表形式 Release method	・新聞 ・雑誌 ・Web site ・記者発表 ・その他()		
発表タイトル Released title			

8. 本研究テーマに関する特許出願予定 Patent application concerned with your research theme

出願予定 Scheduled	<input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	出願国 Application	
出願内容(概要) Application contents			

9. その他 Others

2019年12月の日本語能力試験(N1レベル)に合格しました。

指導責任者(署名)

稲垣 暢也



RESEARCH

Gene expression of nutrient-sensing molecules in I cells of CCK reporter male mice

Tomoko Kato, Norio Harada, Eri Ikeguchi-Ogura, Akiko Sankoda, Tomonobu Hatoko, Xuejing Lu, Takuma Yasuda, Shunsuke Yamane and Nobuya Inagaki

Department of Diabetes, Endocrinology and Nutrition, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Kyoto, Japan

Correspondence should be addressed to N Harada: nharada@kuhp.kyoto-u.ac.jp

Abstract

Cholecystokinin (CCK) is secreted from enteroendocrine I cells in response to fat, carbohydrate, and protein ingestion. Gene expression of nutrient-sensing molecules in I cells remains unclear, primarily due to the difficulty in distinguishing I cells from intestinal epithelial cells *in vivo*. In this study, we generated CCK reporter male mice in which the red fluorescence protein tdTomato (Tomato) is produced by activation of the native murine *Cck* promoter. Fluorescence microscopy revealed the presence of Tomato-positive cells in upper small intestine (SI), lower SI, and colon. Flow cytometer analysis revealed that Tomato-positive cells among epithelial cells of upper SI, lower SI, and colon occurred at the rate of 0.95, 0.54, and 0.06%, respectively. In upper SI and lower SI, expression levels of *Cck* mRNA were higher in Tomato-positive cells than those in Tomato-negative cells. The fatty acid receptors *Gpr120*, *Gpr40*, and *Gpr43* and the oleoylethanolamide receptor *Gpr119* were highly expressed in Tomato-positive cells isolated from SI, but were not found in Tomato-positive cells from colon. The glucose and fructose transporters *Sglt1*, *Glut2*, and *Glut5* were expressed in both Tomato-positive cells and -negative cells, but these expression levels tended to be decreased in Tomato-positive cells from upper SI to colon. The peptide transporter *Pept1* and receptor *Gpr93* were expressed in both Tomato-positive cells and -negative cells, whereas *Casr* was expressed only in Tomato-positive cells isolated from SI. Thus, this transgenic mouse reveals that I cell number and gene expression in I cells vary according to region in the gastrointestinal tract.

Key Words

- ▶ cholecystokinin
- ▶ I cell
- ▶ free fatty acid receptor
- ▶ glucose transporter
- ▶ peptide receptor

*Journal of Molecular
Endocrinology*
(2021) **66**, 11–22

Introduction

Gut hormones are released from enteroendocrine cells in response to nutrients, and play an important role in food intake, nutrient absorption, energy accumulation and glucose homeostasis. For example, ghrelin secreted from X/A-like cells expressed in the stomach increases food intake and body weight (Nakazato *et al.* 2001); peptide YY (PYY) and the incretin glucagon-like peptide-1 (GLP-1) released from enteroendocrine L cells inhibit food intake and reduce body weight (Davis *et al.* 1998, Batterham

et al. 2002). In addition, glucose-dependent insulinotropic polypeptide/gastric inhibitory polypeptide (GIP) is an incretin secreted from enteroendocrine K cells, and plays an important role in obesity and insulin resistance under high-fat diet (HFD)-fed condition (Harada *et al.* 2008, Nasteska *et al.* 2014, Joo *et al.* 2017, Shimazu-Kuwahara *et al.* 2017).

Cholecystokinin (CCK) is a gut hormone secreted from enteroendocrine I cells in small intestine and colon

(Fakhry *et al.* 2017), and activates the nucleus of the solitary tract through the vagus nerve system to suppress appetite and food intake (Whited *et al.* 2006). CCK-producing cells are expressed in the CNS, and directly inhibit food intake (D'Agostino *et al.* 2016). The OLETF rat, which has a deletion in the *CCK1 receptor* gene, shows hyperphagia and obesity (Otsuki *et al.* 1995, Tachibana *et al.* 1996). On the other hand, CCK induces secretion of bile and pancreatic lipase, which are involved in fat digestion and absorption (Rehfeld 2004). HFD-fed *Cck*-knockout mice demonstrate that inhibition of CCK signaling alleviates body weight gain and insulin resistance under HFD-fed condition (Lo *et al.* 2011). We previously reported that CCK has an important role in oil-induced secretion of GIP, which is involved in body weight gain and insulin resistance (Sankoda *et al.* 2017). This finding shows that CCK is involved in obesity and insulin resistance under HFD-fed condition. Thus, regulation of CCK signaling or CCK secretion is a potential therapeutic target for obesity and insulin resistance.

CCK is secreted from I cells by nutrient ingestion; fat and protein strongly stimulate CCK secretion in comparison with glucose (Green *et al.* 1989, Pilichiewicz *et al.* 2007, Hutchison *et al.* 2015). Some nutrient-sensing molecules have been identified. Glucose transporters such as sodium-glucose cotransporter 1 (SGLT1) and glucose transporter 2 (GLUT2) are associated with GLP-1 and GIP secretion after glucose loading (Gorboulev *et al.* 2012, Mace *et al.* 2012). Furthermore, free fatty acid receptors (FFARs) and fatty acid transporters (FATPs) play an important role in free fatty acid sensing in gut hormone-producing cells (Poreba *et al.* 2012, Lu *et al.* 2018). Some amino acid transporters and receptors are involved in GLP-1 secretion (Diakogiannaki *et al.* 2013). In contrast, it remains unclear whether these molecules are expressed in I cells, primarily due to the difficulty in isolating them from intestinal epithelial cells. In this study, we generated CCK reporter male mice in which the red fluorescence protein (RFP) variant tdTomato (Tomato) as well as CCK is produced by activation of the native murine *Cck* promoter, and evaluated gene expression of the molecules associated with nutrient sensing in I cells expressed in the gastrointestinal (GI) tract.

Materials and methods

Animals

CCK-internal ribosome entry site (*IRES*)-*Cre* knock-in (CCK-*Cre*) mice and Ai14 mice were previously generated

(JAX stock #012706, #007908) (Jackson Laboratory) (Madisen *et al.* 2010, Taniguchi *et al.* 2011). CCK-*Cre* and Ai14 heterozygous (CCK-Tomato) mice, which enabled visualization of I cells by Tomato fluorescence, were generated by crossbreeding CCK-*Cre* homozygous mice and Ai14 homozygous mice. Ai14 heterozygous mice were used as control. Male mice at 8–13 weeks of age were used in flow cytometer analysis and immunohistochemical analysis. We performed two cohorts to evaluate the phenotype of CCK-Tomato mice. In one cohort, 8-week-old male mice were weighed weekly for 20 weeks. Non-fasting blood samples were collected from the portal vein of mice at 10 weeks of age, and plasma CCK concentrations were measured by CCK fluorescent enzyme immunoassay (EIA) kit (FEK-069-04) (Phoenix Pharmaceuticals Inc., Burlingame, CA, US). In the other cohort, male mice at 19 weeks of age were used. Oral glucose tolerance tests (OGTTs) and oral corn oil tolerance tests (OCTTs) were performed after a 16-h fasting period. Mice were administered glucose of 6 g/kg body weight for OGTTs and corn oil of 10 mL/kg body weight for OCTTs. Blood glucose levels were measured at 0, 15 (for OGTTs), 30, 60, and 120 min after oral glucose or oil administration by the glucose oxidase method (Sanwa Kagaku Kenkyusho, Nagoya, Japan). 60 μ L blood samples were collected from peripheral blood vessels at 15 or 30 min after oral glucose or oil administration, and plasma insulin (Shibayagi, Shibukawa, Japan) and CCK levels (Phoenix Pharmaceuticals Inc.) were measured by EIA kit, respectively. Energy expenditure and locomotor activity were measured by ARCO 2000 (ARCO System, Chiba, Japan) every 5 min over 24 h with free access to water and diet (Kanemaru *et al.* 2020). Animal care and procedures were approved by Kyoto University Animal Care Committee (MedKyo15298).

Immunohistochemistry

Stomach, upper small intestine (upper SI), lower small intestine (lower SI), and colon were collected from CCK-Tomato mice and fixed by 4% paraformaldehyde. The protocol of immunohistochemistry was previously described (Ikeguchi *et al.* 2018). Anti-CCK antibody (CCK8-MO-167-2, 1:1000) (Frontier Institute Co., Ltd., Hokkaido, Japan), anti-RFP antibody (600-401-379, 1:1000) (Rockland Immunochemicals Inc., Limerick, PA, US), and secondary antibodies (Abcam) were used. Images were taken using a fluorescence microscope FS \times 100 (Olympus Corporation).

Isolation of Tomato-positive and -negative cells by flow cytometry

The protocol to isolate fluorescence protein-producing cells from murine intestinal epithelium was described previously (Suzuki *et al.* 2013). The small intestine was divided in half, and the oral and rectal portions were defined as upper SI and lower SI, respectively. The collected intestinal epithelial cells were filtered through a 40 μ m cell strainer (Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, US), and phosphate buffered salts (PBS) containing 4' DAPI (Dojindo Molecular Technologies, Inc., Kumamoto, Japan) was added. After excluding DAPI-positive cells as dead cells or doublets, Tomato-positive cells and -negative cells were collected using FACS Aria III cell sorter (Becton, Dickinson and Company). The number of Tomato-positive cells was also calculated as Tomato-positive cells/intestinal epithelial cells (%).

Quantitative reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

Total RNAs of sorted Tomato-positive and -negative cells were extracted with a PicoPure RNA Isolation Kit (Applied Biosystems). For cDNA synthesis of sorted 2000 Tomato-positive and -negative cells, RNA was reverse-transcribed using SuperScript II Reverse Transcriptase and Oligo(dT)12–18 (Invitrogen). SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems) was prepared for the PCR run. The mRNA expression levels were measured by quantitative real-time PCR using the ABI PRISM 7000 Sequence Detection System (Applied Biosystems). *Ppia* was used as the internal control. Each data point was analyzed by the comparative threshold cycle method ($\Delta\Delta$ Ct method). Primer pairs designed for evaluation of gene expression are as follows: *Glut2*, 5'-AATGGTCGCCTCATTCTTTG-3' and 5'-ATCAAGAGGGCTCCAGTCAA-3'; *Glut5*, 5'-TCATCTCTGTGTGGAAGTTG-3' and 5'-AGATCTGATCGGCGTAGTAG-3'; *Sglt1*, 5'-GTGCTGGGCTGGATATTTGT-3' and 5'-AGGCCCAAGGCTAGATTGAT-3'; *Pept1*, 5'-ATCATTGTGCTCATCGTGGC-3' and 5'-GTGCTTCAATCTCTGCTGGG-3'; *Gpr93*, 5'-GGTGCTGATGATAATGGTGCT-3' and 5'-GTAGCCAAAGGCCTGGTATTC-3'; *Casr*, 5'-GCATCAGGTATAACTTCCGTGG-3' and 5'-TTGGAGACGGTGTACAGGTG-3'; *Gpr41*, 5'-TTCTTGACGCCACACTGCTC-3' and 5'-GCCCACCACATGGGACATAT-3'; *Gpr43*, 5'-ACAGTGGAGGGACCAAGAT-3' and 5'-GGGACTCTCTACTCGGTGA-3'; *Gpr40*, 5'-TTTGCCTGGGCTTTCC-3' and 5'-GCTGGGAGTGAGTCGCAGTT-3'; *Gpr119*, 5'-AGAAAG

CGCCTATCACATCG-3' and 5'-CAACCTGCCTTTACCAGTTG-3'; *Cd36*, 5'-CGCTTTCTGCGTATCGTCTG-3' and 5'-GATGCACGGGATCGTGTCT-3'; *Fatp1*, 5'-TCTGTTCTGATTCGTGTTCGG-3' and 5'-AAGATGCACGGGATCGTGTCT-3'; *Fatp2*, 5'-TCCTCCAAGATGTGCGGTACT-3' and 5'-TAGGTGAGCGTCTCGTCTCG-3'; *Fatp3*, 5'-ATGACAGGGGAGCCTATTCG-3' and 5'-ATCCTTCAGCAGCTTGTCT-3'; *Fatp4*, 5'-ACTGTTCTCCAAGCTAGTGCT-3' and 5'-GATGAAGACCCGGATGAAACG-3'; *Fatp5*, 5'-CTACGTGGCTGCATATAGATG-3' and 5'-CCACAAAGGTCTCTGGAGGAT-3'; *Secretin*, 5'-AGCCCTTAGAGGACCAGCTC-3' and 5'-TGAACGATCAACAGCAGACC-3'; *Glp-1*, 5'-TGAAGACAAACGCCACTCAC-3' and 5'-TCATGACGTTTGGCAATGTT-3'. Others were previously designed (Iwasaki *et al.* 2015, Sankoda *et al.* 2017).

Statistical analysis

Results are shown as dot plot or mean \pm S.E.M. One or two data points of some results that exceeded mean \pm 2 S.D were excluded. Statistical significance was determined by Student's *t*-test or one way ANOVA with Tukey or Games-Howell test. *P* values < 0.05 were considered statistically significant.

Results

Phenotype of CCK-Tomato mice

IRES and Cre recombinase were inserted downstream of the murine *CCK* locus in CCK-Cre mice (Taniguchi *et al.* 2011). With this construction, the promoter and coding region of both *Cck* genes were intact in CCK-Tomato mice. Body weight of the CCK-Tomato mice was similar to that of control mice during 9–29 weeks of age (Fig. 1A). There was no significant difference in non-fasting CCK levels between control and CCK-Tomato mice (Control mice 194.9 \pm 102.1 mg/dL vs CCK-Tomato mice 328.1 \pm 248.1 mg/dL; *P* = 0.10). There was no significant difference in food intake, energy expenditure and locomotor activity between CCK-Tomato mice and control mice (Fig. 1B and C). During OGTTs and OCTTs, blood glucose levels were not different between the two types of mice (Fig. 1D and E). Plasma insulin and CCK levels after glucose or corn oil administration were not different between the two groups. These results indicated that the *CCK-IRES-Cre* allele does not affect body weight gain, food intake, energy expenditure, locomotor activity, and glucose tolerance under 11% fat-containing diet-fed condition.

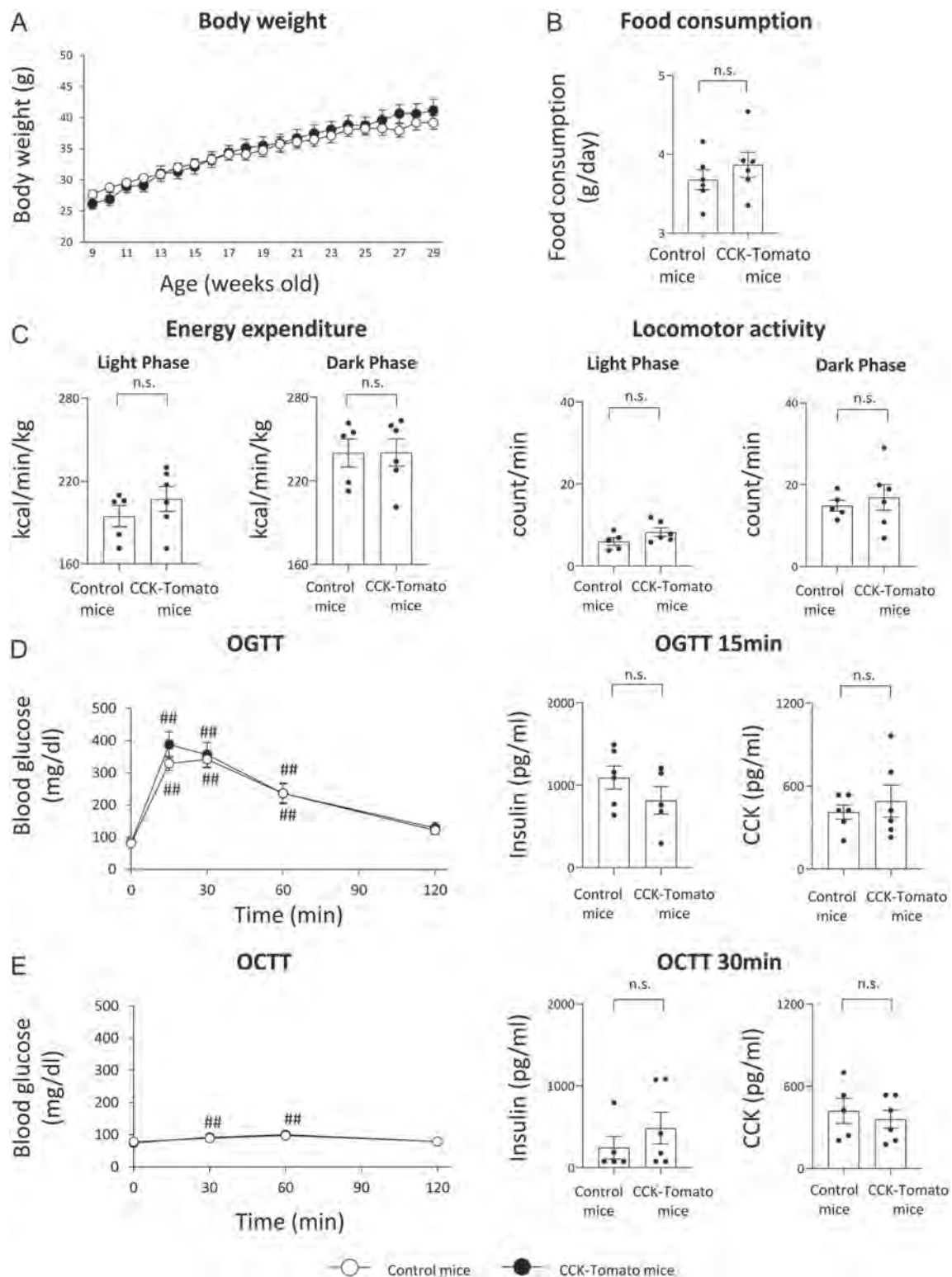


Figure 1

Phenotype of CCK-Tomato mice. (A) Body weight, (B) food consumption, (C) energy expenditure, and locomotor activity ($n = 5-6$). Blood glucose levels and plasma insulin and CCK levels during (D) OGTTs and (E) OCTTs ($n = 6$). Control mice (white circles) and CCK-Tomato mice (black circles). $\#P < 0.05$, $\#\#P < 0.01$ vs plasma glucose levels at 0 min, n.s., not significant.

Number of I cells in CCK-Tomato mice

Under fluorescence microscopy, Tomato-positive cells were detected in upper SI, lower SI, and colon of CCK-Tomato mice, but not in stomach (data not shown). Immunohistochemical analysis showed that Tomato-expressing cells were identical to CCK-expressing cells in upper SI, lower SI, and colon of CCK-Tomato mice (Fig. 2A).

We then evaluated the number of Tomato-expressing cells in small intestine and colon by histological analysis. The length of villus and the number of Tomato-expressing cells in small intestine were greater than those in colon (Fig. 2B and C). The ratio of Tomato-expressing cell number/length of villus was significantly higher in upper SI and lower SI than that in colon (Fig. 2D). In addition, the number of Tomato-positive cells was calculated by flow cytometry system (Fig. 2E). Tomato-positive cells/epithelial cells in upper SI, lower SI, and colon was 0.95 ± 0.30 , 0.54 ± 0.14 , and $0.06 \pm 0.01\%$, respectively. Tomato-positive cell number was greater in upper SI and lower SI than that in colon, but the number significantly differed only between lower SI and colon. After purification of each 2000 Tomato-positive and -negative cells, gene expression of *Cck* mRNA in the cells was evaluated (Fig. 2F). In upper SI, lower SI and colon, *Cck* mRNA expression was detected in Tomato-positive cells but not in Tomato-negative cells. In upper SI and lower SI, expression levels of *Cck* mRNA were higher in Tomato-positive cells than those in Tomato-negative cells. On the other hand, there was no significant difference in *Cck* mRNA expression levels between Tomato-positive and -negative cells in colon. *Cck* mRNA expression levels in Tomato-positive cells of upper SI and lower SI were significantly higher than those of colon.

Gene expression of molecules involved in fatty acid sensing in I cells

We then evaluated gene expression of G protein-coupled receptors (GPRs) and transporters for free fatty acid. In upper SI and lower SI, expression levels of the long-chain fatty acid (LCFA) receptors *Ffar4* (*Gpr120*) (Fig. 3A) and *Ffar1* (*Gpr40*) (Fig. 3B) and the oleoylethanolamide (OEA) receptor *Gpr119* (Fig. 3C) mRNA were significantly higher in Tomato-positive cells than those in Tomato-negative cells. The expression levels did not differ between Tomato-positive and -negative cells in colon. In upper and lower SI, expression levels of the short-chain

fatty acid (SCFA) receptor *Ffar2* (*Gpr43*) mRNA (Fig. 3D) were high in Tomato-positive cells compared to those in Tomato-negative cells, but expression levels of *Ffar3* (*Gpr41*) mRNA (Fig. 3E) did not differ between Tomato-positive and -negative cells. Bile acid receptor transmembrane GPR 5 (*Tgr5*) mRNA was highly expressed in Tomato-positive cells compared to that in Tomato-negative cells in lower SI (Fig. 3F). Gene expression of the fatty acid transport protein (FATP) 1–5 and cluster of differentiation 36 (CD36) was also evaluated. *Fatp4* and *Cd36* mRNA expressions were detected in Tomato-positive cells, but the expression levels did not differ between Tomato-positive cells and -negative cells (data not shown). *Fatp1*, *Fatp2*, *Fatp3*, and *Fatp5* expressions were not detected in Tomato-positive or -negative cells (data not shown).

Gene expression of molecules involved in glucose, fructose, and amino acid sensing in I cells

In upper SI, expression levels of glucose transporters *Sglt1* (Fig. 4A) and *Glut2* (Fig. 4B) and fructose transporter *Glut5* (Fig. 4C) mRNA tended to be higher in Tomato-positive cells than those in Tomato-negative cells, but there was not a significant difference between the two groups. Expression levels of *Sglt1*, *Glut2*, and *Glut5* mRNA tended to be higher in upper SI than those in lower SI. In colon, these expressions were not detected in Tomato-positive cells.

Gene expression levels of peptide transporter 1 (*Pept1*) (Fig. 4D) and *Gpr93* (Fig. 4E), which are protein metabolite-sensing molecules, did not differ between Tomato-positive and -negative cells in upper and lower SI. In colon, *Gpr93* mRNA was not detected in Tomato-positive or -negative cells, whereas *Pept1* mRNA was highly expressed in Tomato-negative cells compared to that in Tomato-positive cells. mRNA of the calcium-sensing receptor (*Casr*), which is reported to be involved in amino acid-induced gut hormone secretion (Mace *et al.* 2012), was highly expressed in Tomato-positive cells of upper SI (Fig. 4F). On the other hand, *Casr* mRNA was not detected in Tomato-negative cells.

Gene expression of gut hormones in I cells

Some gut hormones are reported to be co-expressed in enteroendocrine cells (Egerod *et al.* 2012, Habib *et al.* 2012). In addition, nutrient-sensing molecules are reported

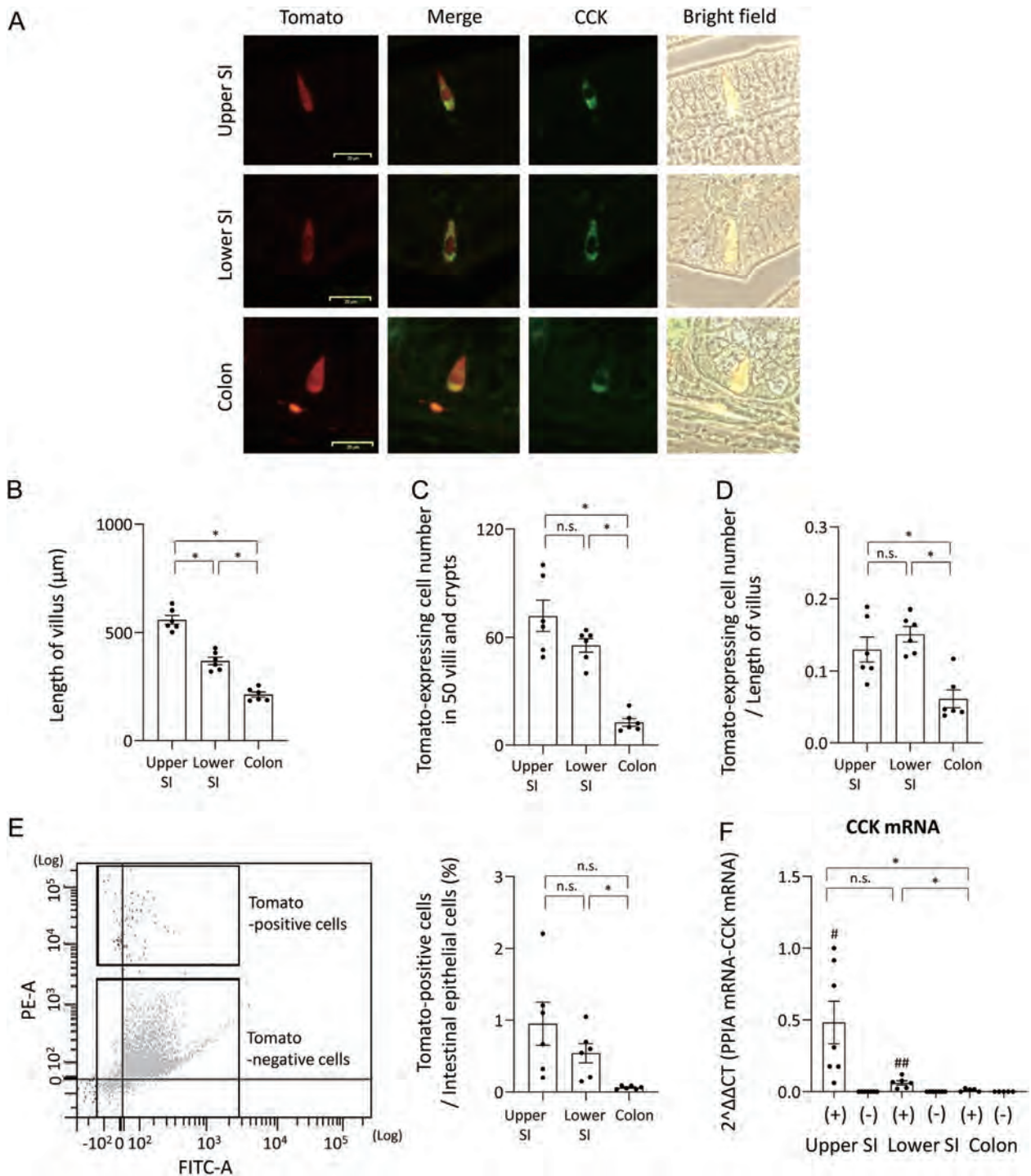


Figure 2

Localization of I cells in the GI tract of CCK-Tomato mice. (A) Immunohistochemical images of the upper SI, lower SI, and colon in CCK-Tomato mice. Red: Tomato-expressing cells, Green: CCK-expressing cells, Yellow: merged image. (B) Length of villus and (C) number of Tomato-expressing cells in 50 villi and crypts were measured by immunohistochemistry ($n = 6$). (D) Tomato-expressing cells were quantified as the number of Tomato-expressing cells/length of mucous membrane ($n = 6$). (E) The levels of red fluorescence in isolated epithelial cells were evaluated and Tomato-positive cells were counted from the data of flow cytometry analysis ($n = 6$). (F) Expression of *Cck* mRNA in I cells ($n = 6-7$). $*P < 0.05$ and $##P < 0.01$ vs Tomato negative cells, $*P < 0.05$, n.s., not significant.

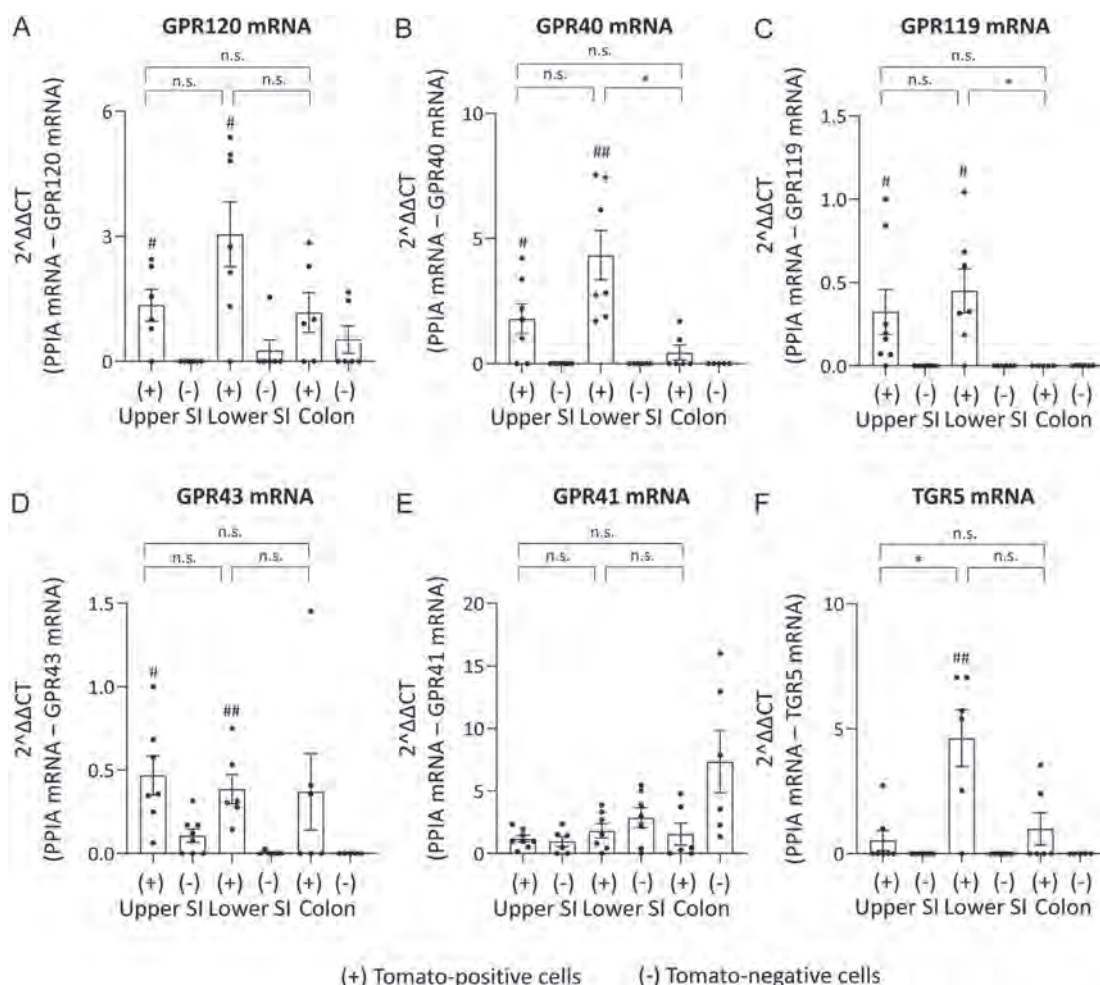


Figure 3

Expressions of FFARs and TGR5 mRNA and in I cells. Data are shown as relative expression to that of *Ppia* expression in parallel in the same samples (A: *Gpr120*, B: *Gpr40*, C: *Gpr119*, D: *Gpr43*, E: *Gpr41*, F: *Tgr5*) ($n = 6-8$). # $P < 0.05$ and ## $P < 0.01$ vs Tomato-negative cells, * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$, n.s., not significant.

to be expressed in glucose-dependent insulinotropic polypeptide/gastric inhibitory polypeptide (GIP)-producing K cells and glucagon-like peptide-1 (GLP-1)-producing L cells and to be involved in nutrient-induced GIP and GLP-1 secretion (Reimann *et al.* 2012, Iwasaki *et al.* 2015). We therefore evaluated mRNA expression of other gut hormones in Tomato-positive cells and -negative cells. *Secretin* and *Gip* were found to be highly expressed in Tomato-positive cells of upper SI and lower SI (Fig. 5A and B). On the other hand, *Glp-1* was expressed in I cells of upper SI and colon (Fig. 5C). These three gut hormones were not expressed in Tomato-negative cells of SI and colon. These results indicate that some gut hormone-producing cells overlap with I cells.

Discussion

In previous studies, characterization of I cells was done using purified cells from the intestine of transgenic (CCK-GFP Tg) mice expressing green fluorescence protein (GFP) under control of a *Cck* promoter derived from a BAC clone (Liou *et al.* 2011a). Although expression of some molecules associated with nutrient sensing in I cells has been reported, these analyses focused on I cells expressed in small intestine. We have established CCK-Tomato mice in which Tomato is expressed under endogenous and native *Cck* promoter; the present study is the first to report I cell number and the expression of CCK and various molecules associated with nutrient sensing in I cells of each part of the GI tract.

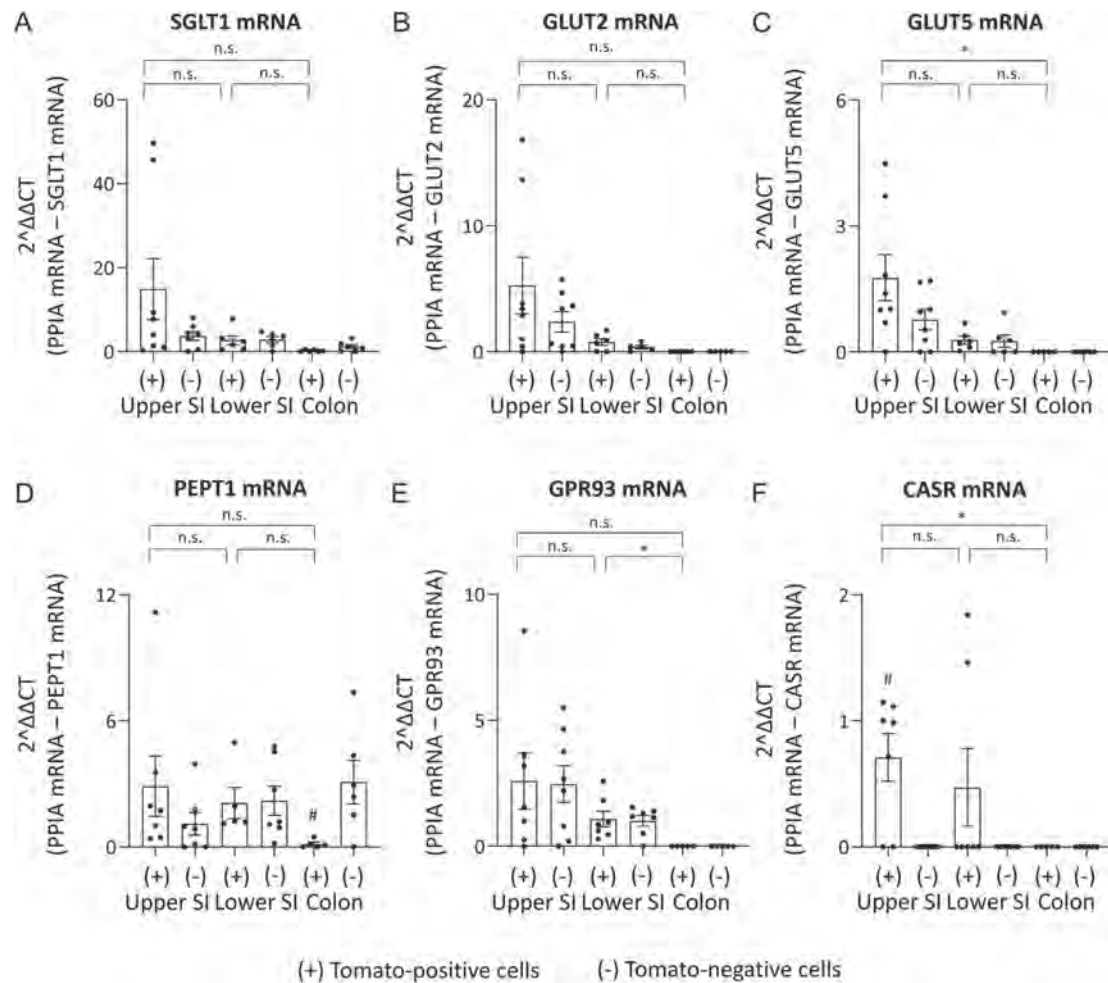


Figure 4

Expressions of glucose transporters, amino acid transporter, and amino acid receptors mRNA in I cells. Data are shown as relative expression to that of PPIA expression in parallel in the same samples (A: *Sglt1*, B: *Glut2*, C: *Glut5*, D: *Pept1*, E: *Gpr93*, F: *Casr*) ($n = 6-8$). * $P < 0.05$ and ## $P < 0.01$ vs Tomato-negative cells, * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$, n.s., not significant.

I cells in the GI tract have previously been evaluated by immunohistochemistry with anti-CCK antibodies. I cells are distributed throughout the small intestine and large intestine, but the number of I cells in the small intestine is greater (Fakhry *et al.* 2017). Our findings regarding I cell number in the GI tract of CCK-Tomato mice by immunohistochemistry with anti-RFP antibodies are consistent with previous studies. However, CCK-Tomato mice enabled evaluation of not only I cell number in the GI tract, but also *Cck* gene expression in isolated I cells. Using the flow cytometry system, I cells among epithelial cells of upper SI, lower SI, and colon were found to occur at the rate of 0.95 ± 0.30 , 0.54 ± 0.14 , and $0.06 \pm 0.01\%$, respectively. A majority of the I cells were detected in upper SI, and their frequency decreased

toward the distal part of the GI tract. The expression levels of *Cck* mRNA in isolated I cells from upper SI were highest in the GI tract, and decreased toward the distal part of the GI tract. These results indicate that I cells in upper SI are the main contributor to CCK secretion in response to various nutrients.

Fat ingestion strongly stimulates CCK secretion (Green *et al.* 1989). GPR40, GPR120, and GPR119 are receptors activated by the nutrients LCFAs and OEA. These receptors are reported to be expressed in incretin-producing cells and to be involved in incretin secretion (Iwasaki *et al.* 2015, Sankoda *et al.* 2019). Bile, which is composed of bile acids, is important for fat digestion and absorption, and is reported to induce CCK secretion in the fasting state (Meyer-Gerspach *et al.* 2013). TGR5, a

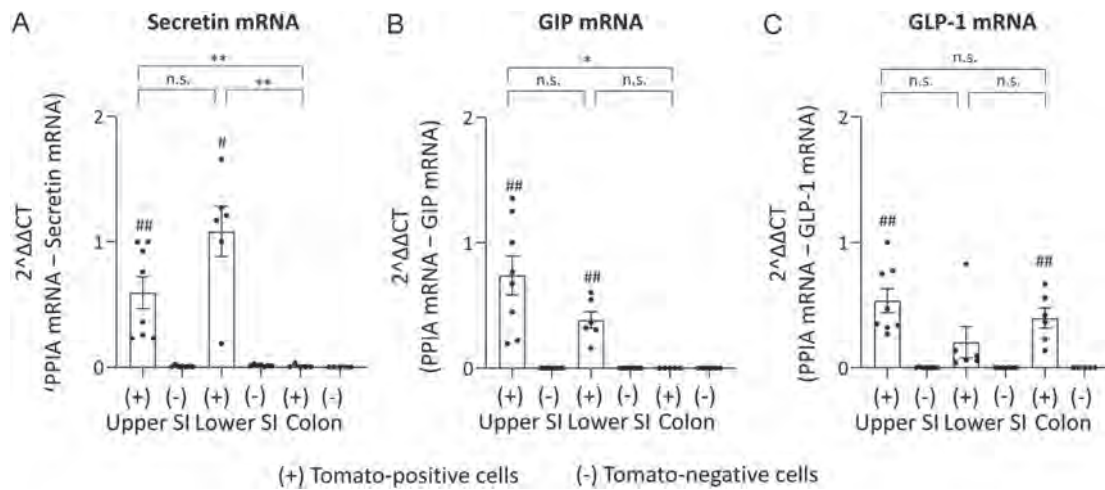


Figure 5

Expressions of gut hormones mRNA in I cells. Expression levels of (A) *Secretin* mRNA, (B) *Gip* mRNA, and (C) *Glp-1* mRNA in Tomato-positive and -negative cells. Data are shown as relative expression to that of PPIA expression in parallel in the same samples ($n = 6-8$). # $P < 0.05$ and ## $P < 0.01$ vs Tomato-negative cells, * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$, n.s., not significant.

bile acid receptor, is expressed in L cells and is involved in GLP-1 secretion (Brighton *et al.* 2015). Previous studies using the mouse intestinal cell line STC-1 and *GPR40*- or *GPR120*-knockout mice showed that GPR40 and GPR120 are involved in CCK secretion in response to LCFAs and fat (Tanaka *et al.* 2008, Sankoda *et al.* 2017). On the other hand, it remains unclear whether GPR119 and TGR5 are involved in CCK secretion, although these receptors are expressed in I cells of the small intestine of CCK-GFP Tg mice (Sykaras *et al.* 2012). In our study, *Gpr40*, *Gpr120*, and *Gpr119* were found to be expressed mainly in Tomato-positive cells of upper and lower SI and were not detected in the cells of colon. *Tgr5* was highly expressed in Tomato-positive cells of lower SI. These results indicate that these receptors may well be involved in CCK secretion upon fat ingestion. Indeed, some LCFA transporters are expressed in various tissues including intestine. We evaluated gene expression of *Fatp1-5* and *Cd36* mRNA in Tomato-positive cells and -negative cells, and found that *Fatp4* and *Cd36* are expressed in Tomato-positive cells as well as -negative cells. Our data are consistent with the previous report showing that FATP4 and CD36 are involved in GLP-1 and CCK secretion, respectively (Poreba *et al.* 2012, Sundaresan *et al.* 2013), and go further to suggest their role in CCK secretion upon fat ingestion.

Glucose and fructose are known to induce CCK secretion (Kuhre *et al.* 2014); the glucose transporters SGLT1 and GLUT2 and fructose transporter GLUT5 are expressed in enteroendocrine cells and are involved in glucose and fructose-induced gut hormone secretion,

respectively (Reimann *et al.* 2008, Parker *et al.* 2009, Gorboulev *et al.* 2012, Mace *et al.* 2012). The previous study using small intestine of CCK-GFP Tg mice revealed that SGLT1 is expressed in I cells as well as other intestinal epithelial cells (Kaelberer *et al.* 2018), but the expression of GLUT2 and GLUT5 in I cells was not examined. In the present study, *Sglt1*, *Glut2*, and *Glut5* were found to be expressed in both Tomato-positive cells and -negative cells in upper SI, lower SI, and colon, and the expression levels tended to be higher in upper SI than those in lower SI and colon. These results revealed that the expression patterns in Tomato-positive and -negative cells in SI and colon are similar among the three transporters.

Peptide transporter PEPT1, peptone receptor GPR93, and amino acid-sensing receptor CASR have been identified as protein metabolite-sensing molecules associated with gut hormone secretion (Feng *et al.* 2010, Mace *et al.* 2012, Diakogiannaki *et al.* 2013). *In vitro* and *in vivo* studies have shown that GPR93 and CASR are involved in amino acid-induced CCK secretion from I cells (Choi *et al.* 2007, Liou *et al.* 2011b); PEPT1, GPR93, and CASR have been reported to be expressed in I cells of small intestine of CCK-GFP Tg mice (Liou *et al.* 2011b). In the present study, these molecules were found to be expressed in Tomato-positive cells of upper and lower SI; *Pept1* and *Gpr93* were found to be expressed in both Tomato-positive and -negative cells. On the other hand, *Casr* was expressed in Tomato-positive cells but not in Tomato-negative cells, indicating that *Casr* is specifically expressed in I cells. In colon, expression

levels of *Pept1* mRNA were significantly higher in Tomato-negative cells than those in Tomato-positive cells. As PEPT1 is reported to play an important role in the regulation of water absorption into intestinal epithelium (Wuensch *et al.* 2013), the molecule might be highly expressed in intestinal epithelial cells detected as Tomato-negative cells.

CCK plays a key physiological role in fat absorption and regulation of energy intake. Thus, regulation of nutrient-sensing molecule-mediated CCK secretion might represent possible novel therapeutic approaches to obesity and type 2 diabetes. Analysis using CCK-Tomato mice revealed that I cells are broadly distributed throughout the GI tract, and that the various molecules involved in nutrient sensing are abundantly expressed in I cells.

Declaration of interest

N I received joint research grants from Daiichi Sankyo Co., Ltd., Terumo Co., Ltd., and Drawbridge, Inc.; received speaker honoraria from Kowa Pharmaceutical Co., Ltd.; MSD, Astellas Pharma Inc., Novo Nordisk Pharma Ltd., Ono Pharmaceutical Co., Ltd., Nippon Boehringer Ingelheim Co., Ltd., Takeda Pharmaceutical Co., Ltd., and Mitsubishi Tanabe Pharma Co., Ltd.; received scholarship grant from Kissei Pharmaceutical Co., Ltd., Sanofi, Daiichi Sankyo Co., Ltd., Mitsubishi Tanabe Pharma Co., Ltd., Takeda Pharmaceutical Co., Ltd., Japan Tobacco Inc., Kyowa Kirin Co., Ltd., Sumitomo Dainippon Pharma Co., Ltd., Astellas Pharma Inc., MSD, Eli Lilly Japan, Ono Pharmaceutical Co. Ltd., Sanwa Kagaku Kenkyusho Co. Ltd., Nippon Boehringer Ingelheim Co., Ltd., Novo Nordisk Pharma Ltd., Novartis Pharma K.K., Teijin Pharma Ltd., and Life Scan Japan Inc. N H received scholarship grant from Mitsubishi Tanabe Pharma Co., Ltd., Ono Pharmaceutical Co. Ltd., Sanofi, and Novo Nordisk Pharma Ltd. All other authors have nothing to disclose.

Funding

This study was supported by grants from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (MEXT), Japan Society for the Promotion of Science (JSPS) (grant numbers 20H03731, 19K09022), Ministry of Health, Labour, and Welfare, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan Association for Diabetes Education and Care, Merck Sharp & Dohme (MSD) Life Science Foundation, Public Interest Incorporated Foundation, and Japan Diabetes Foundation.

Author contribution statement

T K and N H planned the study, researched data, contributed to discussion, wrote, reviewed and edited the manuscript. E I-O, A S, T H, X L, T Y, and S Y researched data. N I planned the study, contributed to discussion, and edited the manuscript. All authors approved the final version of the manuscript.

Acknowledgements

The authors thank the Medical Research Support Center, Graduate School of Medicine, Kyoto University for experimental support.

References

- Batterham RL, Cowley MA, Small CJ, Herzog H, Cohen MA, Dakin CL, Wren AM, Brynes AE, Low MJ, Ghatei MA, *et al.* 2002 Gut hormone PYY(3–36) physiologically inhibits food intake. *Nature* **418** 650–654. (<https://doi.org/10.1038/nature00887>)
- Brighton CA, Rievaj J, Kuhre RE, Glass LL, Schoonjans K, Holst JJ, Gribble FM & Reimann F 2015 Bile acids trigger GLP-1 release predominantly by accessing basolaterally located G protein-coupled bile acid receptors. *Endocrinology* **156** 3961–3970. (<https://doi.org/10.1210/en.2015-1321>)
- Choi S, Lee M, Shiu AL, Yo SJ, Halldén G & Aponte GW 2007 GPR93 activation by protein hydrolysate induces CCK transcription and secretion in STC-1 cells. *American Journal of Physiology: Gastrointestinal and Liver Physiology* **292** G1366–G1375. (<https://doi.org/10.1152/ajpgi.00516.2006>)
- D'Agostino G, Lyons DJ, Cristiano C, Burke LK, Madara JC, Campbell JN, Garcia AP, Land BB, Lowell BB, Dileone RJ, *et al.* 2016 Appetite controlled by a cholecystokinin nucleus of the solitary tract to hypothalamus neurocircuit. *eLife* **5** e12225. (<https://doi.org/10.7554/eLife.12225>)
- Davis HR Jr, Mullins DE, Pines JM, Hoos LM, France CF, Compton DS, Graziano MP, Sybertz EJ, Strader CD & Van Heek M 1998 Effect of chronic central administration of glucagon-like peptide-1 (7–36) amide on food consumption and body weight in normal and obese rats. *Obesity Research* **6** 147–156. (<https://doi.org/10.1002/j.1550-8528.1998.tb00329.x>)
- Diakogiannaki E, Pais R, Tolhurst G, Parker HE, Horscroft J, Rauscher B, Zietek T, Daniel H, Gribble FM & Reimann F 2013 Oligopeptides stimulate glucagon-like peptide-1 secretion in mice through proton-coupled uptake and the calcium-sensing receptor. *Diabetologia* **56** 2688–2696. (<https://doi.org/10.1007/s00125-013-3037-3>)
- Egerod KL, Engelstoft MS, Grunddal KV, Nøhr MK, Secher A, Sakata I, Pedersen J, Windeløv JA, Füchtbauer EM, Olsen J, *et al.* 2012 A major lineage of enteroendocrine cells coexpress CCK, secretin, GIP, GLP-1, PYY, and neurotensin but not somatostatin. *Endocrinology* **153** 5782–5795. (<https://doi.org/10.1210/en.2012-1595>)
- Fakhry J, Wang J, Martins P, Fothergill LJ, Hunne B, Prieur P, Shulkes A, Rehfeld JF, Callaghan B & Furness JB 2017 Distribution and characterisation of CCK containing enteroendocrine cells of the mouse small and large intestine. *Cell and Tissue Research* **369** 245–253. (<https://doi.org/10.1007/s00441-017-2612-1>)
- Feng J, Petersen CD, Coy DH, Jiang JK, Thomas CJ, Pollak MR & Wank SA 2010 Calcium-sensing receptor is a physiologic multimodal chemosensor regulating gastric G-cell growth and gastrin secretion. *PNAS* **107** 17791–17796. (<https://doi.org/10.1073/pnas.1009078107>)
- Gorboulev V, Schürmann A, Vallon V, Kipp H, Jaschke A, Klessen D, Friedrich A, Scherneck S, Rieg T, Cunard R, *et al.* 2012 Na(+)-D-glucose cotransporter SGLT1 is pivotal for intestinal glucose absorption and glucose-dependent incretin secretion. *Diabetes* **61** 187–196. (<https://doi.org/10.2337/db11-1029>)
- Green GM, Taguchi S, Friestman J, Chey WY & Liddle RA 1989 Plasma secretin, CCK, and pancreatic secretion in response to dietary fat in the rat. *American Journal of Physiology* **256** G1016–G1021. (<https://doi.org/10.1152/ajpgi.1989.256.6.G1016>)
- Habib AM, Richards P, Cairns LS, Rogers GJ, Bannon CAM, Parker HE, Morley TCE, Yeo GSH, Reimann F & Gribble FM 2012 Overlap of endocrine hormone expression in the mouse intestine revealed by transcriptional profiling and flow cytometry. *Endocrinology* **153** 3054–3065. (<https://doi.org/10.1210/en.2011-2170>)
- Harada N, Yamada Y, Tsukiyama K, Yamada C, Nakamura Y, Mukai E, Hamasaki A, Liu X, Toyoda K, Seino Y, *et al.* 2008 A novel GIP receptor splice variant influences GIP sensitivity of pancreatic beta-cells in obese mice. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism* **294** E61–E68. (<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00358.2007>)

- Hutchison AT, Feinle-Bisset C, Fitzgerald PC, Standfield S, Horowitz M, Clifton PM & Luscombe-Marsh ND 2015 Comparative effects of intraduodenal whey protein hydrolysate on antropyloroduodenal motility, gut hormones, glycemia, appetite, and energy intake in lean and obese men. *American Journal of Clinical Nutrition* **102** 1323–1331. (<https://doi.org/10.3945/ajcn.115.114538>)
- Ikeguchi E, Harada N, Kanemaru Y, Sankoda A, Yamane S, Iwasaki K, Imajo M, Murata Y, Suzuki K, Joo E, *et al.* 2018 Transcriptional factor Pdx1 is involved in age-related GIP hypersecretion in mice. *American Journal of Physiology: Gastrointestinal and Liver Physiology* **315** G272–G282. (<https://doi.org/10.1152/ajpgi.00054.2018>)
- Iwasaki K, Harada N, Sasaki K, Yamane S, Iida K, Suzuki K, Hamasaki A, Nasteska D, Shibue K, Joo E, *et al.* 2015 Free fatty acid receptor GPR120 is highly expressed in enteroendocrine K cells of the upper small intestine and has a critical role in GIP secretion after fat ingestion. *Endocrinology* **156** 837–846. (<https://doi.org/10.1210/en.2014-1653>)
- Joo E, Harada N, Yamane S, Fukushima T, Taura D, Iwasaki K, Sankoda A, Shibue K, Harada T, Suzuki K, *et al.* 2017 Inhibition of gastric inhibitory polypeptide receptor signaling in adipose tissue reduces insulin resistance and hepatic steatosis in high-fat diet-fed mice. *Diabetes* **66** 868–879. (<https://doi.org/10.2337/db16-0758>)
- Kaelberer MM, Buchanan KL, Klein ME, Barth BB, Montoya MM, Shen X & Bohórquez DV 2018 A gut-brain neural circuit for nutrient sensory transduction. *Science* **361** eaat5236. (<https://doi.org/10.1126/science.aat5236>)
- Kanemaru Y, Harada N, Shimazu-Kuwahara S, Yamane S, Ikeguchi E, Murata Y, Kiyobayashi S, Hatoko T & Inagaki N 2020 Absence of GIP secretion alleviates age-related obesity and insulin resistance. *Journal of Endocrinology* **245** 13–20. (<https://doi.org/10.1530/JOE-19-0477>)
- Kuhre RE, Gribble FM, Hartmann B, Reimann F, Windeløv JA, Rehfeld JF & Holst JJ 2014 Fructose stimulates GLP-1 but not GIP secretion in mice, rats, and humans. *American Journal of Physiology: Gastrointestinal and Liver Physiology* **306** G622–G630. (<https://doi.org/10.1152/ajpgi.00372.2013>)
- Liou AP, Lu X, Sei Y, Zhao X, Pechhold S, Carrero RJ, Raybould HE & Wank S 2011a The G-protein-coupled receptor GPR40 directly mediates long-chain fatty acid-induced secretion of cholecystokinin. *Gastroenterology* **140** 903–912. (<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.10.012>)
- Liou AP, Sei Y, Zhao X, Feng J, Lu X, Thomas C, Pechhold S, Raybould HE & Wank SA 2011b The extracellular calcium-sensing receptor is required for cholecystokinin secretion in response to L-phenylalanine in acutely isolated intestinal I cells. *American Journal of Physiology: Gastrointestinal and Liver Physiology* **300** G538–G546. (<https://doi.org/10.1152/ajpgi.00342.2010>)
- Lo CM, Obici S, Dong HH, Haas M, Lou D, Kim DH, Liu M, D'Alessio D, Woods SC & Tso P 2011 Impaired insulin secretion and enhanced insulin sensitivity in cholecystokinin-deficient mice. *Diabetes* **60** 2000–2007. (<https://doi.org/10.2337/db10-0789>)
- Lu VB, Gribble FM & Reimann F 2018 Free fatty acid receptors in enteroendocrine cells. *Endocrinology* **159** 2826–2835. (<https://doi.org/10.1210/en.2018-00261>)
- Mace OJ, Schindler M & Patel S 2012 The regulation of K- and L-cell activity by GLUT2 and the calcium-sensing receptor CasR in rat small intestine. *Journal of Physiology* **590** 2917–2936. (<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2011.223800>)
- Madisen L, Zwingman TA, Sunkin SM, Oh SW, Zariwala HA, Gu H, Ng LL, Palmiter RD, Hawrylycz MJ, Jones AR, *et al.* 2010 A robust and high-throughput Cre reporting and characterization system for the whole mouse brain. *Nature Neuroscience* **13** 133–140. (<https://doi.org/10.1038/nn.2467>)
- Meyer-Gerspach AC, Steinert RE, Keller S, Malarski A, Schulte FH & Beglinger C 2013 Effects of chenodeoxycholic acid on the secretion of gut peptides and fibroblast growth factors in healthy humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* **98** 3351–3358. (<https://doi.org/10.1210/jc.2012-4109>)
- Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K & Matsukura S 2001 A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* **409** 194–198. (<https://doi.org/10.1038/35051587>)
- Nasteska D, Harada N, Suzuki K, Yamane S, Hamasaki A, Joo E, Iwasaki K, Shibue K, Harada T & Inagaki N 2014 Chronic reduction of GIP secretion alleviates obesity and insulin resistance under high-fat diet conditions. *Diabetes* **63** 2332–2343. (<https://doi.org/10.2337/db13-1563>)
- Otsuki M, Akiyama T, Shirohara H, Nakano S, Furumi K & Tachibana I 1995 Loss of sensitivity to cholecystokinin stimulation of isolated pancreatic acini from genetically diabetic rats. *American Journal of Physiology* **268** E531–E536. (<https://doi.org/10.1152/ajpendo.1995.268.3.E531>)
- Parker HE, Habib AM, Rogers GJ, Gribble FM & Reimann F 2009 Nutrient-dependent secretion of glucose-dependent insulinotropic polypeptide from primary murine K cells. *Diabetologia* **52** 289–298. (<https://doi.org/10.1007/s00125-008-1202-x>)
- Pilichiewicz AN, Chaikomin R, Brennan IM, Wishart JM, Rayner CK, Jones KL, Smout AJ, Horowitz M & Feinle-Bisset C 2007 Load-dependent effects of duodenal glucose on glycemia, gastrointestinal hormones, antropyloroduodenal motility, and energy intake in healthy men. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism* **293** E743–E753. (<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00159.2007>)
- Poreba MA, Dong CX, Li SK, Stahl A, Miner JH & Brubaker PL 2012 Role of fatty acid transport protein 4 in oleic acid-induced glucagon-like peptide-1 secretion from murine intestinal L cells. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism* **303** E899–E907. (<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00116.2012>)
- Rehfeld JF 2004 Clinical endocrinology and metabolism. Cholecystokinin. *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism* **18** 569–586. (<https://doi.org/10.1016/j.beem.2004.07.002>)
- Reimann F, Habib AM, Tolhurst G, Parker HE, Rogers GJ & Gribble FM 2008 Glucose sensing in L cells: a primary cell study. *Cell Metabolism* **8** 532–539. (<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.11.002>)
- Sankoda A, Harada N, Iwasaki K, Yamane S, Murata Y, Shibue K, Thewjitharoen Y, Suzuki K, Harada T, Kanemaru Y, *et al.* 2017 Long-chain free fatty acid receptor GPR120 mediates oil-induced GIP secretion through CCK in male mice. *Endocrinology* **158** 1172–1180. (<https://doi.org/10.1210/en.2017-00090>)
- Sankoda A, Harada N, Kato T, Ikeguchi E, Iwasaki K, Yamane S, Murata Y, Hirasawa A & Inagaki N 2019 Free fatty acid receptors, G protein-coupled receptor 120 and G protein-coupled receptor 40, are essential for oil-induced gastric inhibitory polypeptide secretion. *Journal of Diabetes Investigation* **10** 1430–1437. (<https://doi.org/10.1111/jdi.13059>)
- Shimazu-Kuwahara S, Harada N, Yamane S, Joo E, Sankoda A, Kieffer TJ & Inagaki N 2017 Attenuated secretion of glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) does not alleviate hyperphagic obesity and insulin resistance in ob/ob mice. *Molecular Metabolism* **6** 288–294. (<https://doi.org/10.1016/j.molmet.2017.01.006>)
- Sundaresan S, Shahid R, Riehl TE, Chandra R, Nassir F, Stenson WF, Liddle RA & Abumrad NA 2013 CD36-dependent signaling mediates fatty acid-induced gut release of secretin and cholecystokinin. *FASEB Journal* **27** 1191–1202. (<https://doi.org/10.1096/fj.12-217703>)
- Suzuki K, Harada N, Yamane S, Nakamura Y, Sasaki K, Nasteska D, Joo E, Shibue K, Harada T, Hamasaki A, *et al.* 2013 Transcriptional regulatory factor X6 (Rfx6) increases gastric inhibitory polypeptide (GIP) expression in enteroendocrine K-cells and is involved in GIP hypersecretion in high fat diet-induced obesity. *Journal of Biological Chemistry* **288** 1929–1938. (<https://doi.org/10.1074/jbc.M112.423137>)
- Sykaras AG, Demenis C, Case RM, McLaughlin JT & Smith CP 2012 Duodenal enteroendocrine I-cells contain mRNA transcripts

- encoding key endocannabinoid and fatty acid receptors. *PLoS ONE* **7** e42373. (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042373>)
- Tachibana I, Akiyama T, Kanagawa K, Shiohara H, Furumi K, Watanabe N & Otsuki M 1996 Defect in pancreatic exocrine and endocrine response to CCK in genetically diabetic OLETF rats. *American Journal of Physiology* **270** G730–G737. (<https://doi.org/10.1152/ajpgi.1996.270.4.G730>)
- Tanaka T, Katsuma S, Adachi T, Koshimizu TA, Hirasawa A & Tsujimoto G 2008 Free fatty acids induce cholecystokinin secretion through GPR120. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* **377** 523–527. (<https://doi.org/10.1007/s00210-007-0200-8>)
- Taniguchi H, He M, Wu P, Kim S, Paik R, Sugino K, Kvitsiani D, Fu Y, Lu J, Lin Y, *et al.* 2011 A resource of Cre driver lines for genetic targeting of GABAergic neurons in cerebral cortex. *Neuron* **71** 995–1013. (<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.07.026>)
- Whited KL, Thao D, Kent Lloyd KC, Kopin AS & Raybould HE 2006 Targeted disruption of the murine CCK1 receptor gene reduces intestinal lipid-induced feedback inhibition of gastric function. *American Journal of Physiology: Gastrointestinal and Liver Physiology* **291** G156–G162. (<https://doi.org/10.1152/ajpgi.00569.2005>)
- Wuensch T, Schulz S, Ullrich S, Lill N, Stelzl T, Rubio-Aliaga I, Loh G, Chamaillard M, Haller D & Daniel H 2013 The peptide transporter PEPT1 is expressed in distal colon in rodents and humans and contributes to water absorption. *American Journal of Physiology: Gastrointestinal and Liver Physiology* **305** G66–G73. (<https://doi.org/10.1152/ajpgi.00491.2012>)

Received in final form 2 October 2020

Accepted 5 November 2020

Accepted Manuscript published online 5 November 2020