

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19591057

研究課題名(和文) インクレチンシグナルによる膵 細胞障害阻止と膵 細胞再生の試み

研究課題名(英文) The inhibition of pancreatic b-cell deficiency and regeneration of β -cells by incretin signals.

研究代表者：

宮村 信博 (MIYAMURA NOBUHIRO)

熊本大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：40274716

研究成果の概要：

インクレチン投与により膵 細胞のアポトーシスが抑制され、小胞体ストレスマーカーとミトコンドリア由来活性酸素の抑制が認められた。また PDX-1 陽性細胞を単離抽出し、網羅的遺伝子発現解析を行っており、新規膵 細胞分化因子の同定を目指す。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：糖尿病、インクレチン、膵 細胞

1. 研究開始当初の背景

膵 細胞の分化・増殖促進に寄与するインクレチンは、糖尿病の発症・進展阻止に重要な膵 細胞機能を保護し、アポトーシスを防ぐが、細胞内ストレス(小胞体ストレスや酸化ストレス)との関連は不明であった。

2. 研究の目的

本研究は、インクレチンの一つである exendin-4 投与により、膵 細胞障害に重要な機序である小胞体ストレスとミトコンドリア由来活性酸素の制御が可能であるか否か、また 細胞の分化過程における新規分化因子を同定することを目的とした。

3. 研究の方法

2型糖尿病モデルマウスでインスリン分泌障害を来す高齡db/dbマウスに、インクレチンの一種でglucagon like peptide-1 (GLP-1)のアナログであるexendin-4を投与し、小胞体ストレスおよび酸化ストレス関連分子の変動を検討した。

4. 研究成果

(1) 2型糖尿病モデルマウスにおける細胞再生の誘導と細胞傷害機構の解析

インスリン分泌が低下する高齡db/dbマウスにex-4を4週間にわたって持続皮下投与(30mg/kg/day)すると、生理食塩水投与のコントロール群に比して、空腹時血糖値・随時血糖値が低下し、血中インスリン値が増加した。ブドウ糖負荷によるインスリン分泌反応も改善が認められた。

また摂食量に有意な変化は認められなかったが、体重減少が抑制された。このことは耐糖能の改善を示していると考えられる。

膵細胞において小胞体ストレス分子のうちBipとIRE1a発現はex-4群にて有意に低下した。Calnexinとcalreticulinは不変であった。

またアポトーシス関連分子であるCHOP, caspase-12, cleaved-caspase-3発現はex-4群で低下した。

酸化ストレスマーカーであるMitotracker Red CC-1の蛍光強度はex-4群で低下し、再生膵においてPDX-1発現の増強が観察された。

以上の結果より、ex-4による膵細胞保護には、小胞体ストレスと酸化ストレスの軽減からアポトーシス経路の不活

性化が関与していると考えられた。

(2) PDX-1発現を緑色蛍光で可視化できるPDX-1 promoter-eGFP Tgにおける膵細胞再生の誘導

PDX-1 promoter-eGFP TgマウスにSTZ投与にて糖尿病を誘発した。この糖尿病マウスにex-4を投与することにより糖代謝・インスリン分泌が改善した。再生膵にはPDX-1陽性緑色蛍光が強く観察され、これらを単離し、網羅的遺伝子発現解析により新規膵細胞再生・分化因子の同定をめざしている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計8件)

1. Adachi H, Fujiwara Y, Kondo T, Nishikawa T, Ogawa R, Matsumura T, Ishii N, Nagai R, Miyata K, Tabata M, Motoshima H, Furukawa N, Tsuruzoe K, Kawashima J, Takeya M, Yamashita S, Koh GY, Nagy A, Suda T, Oike Y, Araki E. Angptl 4 deficiency improves lipid metabolism, suppresses foam cell formation and protects against atherosclerosis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009 Feb 20;379(4):806-11.
2. Morino S, Kondo T, Sasaki K, Adachi H, Suico MA, Sekimoto E, Matsuda T, Shuto T, Araki E, Kai H. Mild electrical stimulation with heat shock ameliorates insulin resistance via enhanced insulin signaling. *PLoS ONE*. 2008;3(12):e4068.
3. Morino S, Suico MA, Kondo T, Sekimoto E, Yano S, Matsuda T, Matsuno T, Shuto T, Araki E, Kai H. Mild electrical stimulation increases ubiquitinated proteins and Hsp72 in A549 cells via attenuation of proteasomal degradation. *J Pharmacol Sci*. 2008 Oct;108(2):222-6.
4. Kojima K, Motoshima H, Tsutsumi A, Igata M, Matsumura T, Kondo T, Kawashima J, Ichinose K, Furukawa N, Inukai K, Katayama S, Goldstein BJ, Nishikawa T, Tsuruzoe K, Araki E. Rottlerin activates AMPK possibly through LKB1 in vascular cells and tissues.

- Biochem Biophys Res Commun.** 2008 Nov 14;376(2):434-8.
5. Goto H, Nishikawa T, Sonoda K, Kondo T, Kukidome D, Fujisawa K, Yamashiro T, Motoshima H, Matsumura T, Tsuruzoe K, Araki E. Endothelial MnSOD overexpression prevents retinal VEGF expression in diabetic mice. **Biochem Biophys Res Commun.** 2008 Feb 15;366(3):814-20.
 6. Murata Y, Tsuruzoe K, Kawashima J, Furukawa N, Kondo T, Motoshima H, Igata M, Taketa K, Sasaki K, Kishikawa H, Kahn CR, Toyonaga T, Araki E. IRS-1 transgenic mice show increased epididymal fat mass and insulin resistance. **Biochem Biophys Res Commun.** 2007 Dec 14;364(2):301-7.
 7. Cohen SE, Kokkotou E, Biddinger SB, Kondo T, Gebhardt R, Kratzsch J, Mantzoros CS, Kahn CR. High circulating leptin receptors with normal leptin sensitivity in liver-specific insulin receptor knock-out (LIRKO) mice. **J Biol Chem.** 2007 Aug 10;282(32):23672-8.
 8. Kubota N, Yano W, Kubota T, Yamauchi T, Itoh S, Kumagai H, Kozono H, Takamoto I, Okamoto S, Shiuchi T, Suzuki R, Satoh H, Tsuchida A, Moroi M, Sugi K, Noda T, Ebinuma H, Ueta Y, Kondo T, Araki E, Ezaki O, Nagai R, Tobe K, Terauchi Y, Ueki K, Minokoshi Y, Kadowaki T. Adiponectin stimulates AMP-activated protein kinase in the hypothalamus and increases food intake. **Cell Metab.** 2007 Jul;6(1):55-68.

〔学会発表〕(計 10 件)

- (1) 近藤龍也、一般演題「温熱・電流同時印加療法(MET)の健常人における安全性と慢性炎症マーカー低下効果」、第 46 回日本糖尿病学会九州地方会、2008 年 10 月 10 日、久留米市
- (2) 近藤龍也、シンポジウム「分子シャペロン Hsp72 の物理的および薬理的誘導による内臓脂肪減少・糖代謝改善効果」、第 51 回日本糖尿病学会年次学術集会、2008 年 5 月 22 日、東京
- (3) 近藤龍也、一般演題「温熱・電流同時印加療法(MET)の健常人における安全性と慢性炎症マーカー低下効果」、第 51 回日本糖尿病学会年次学術集会、2008 年 5 月 22 日、東京
- (4) 近藤龍也、ポスター「健常人および動物を対象とした温熱電流同時印加療法による糖代謝改善効果の検討」、第 105 回日本内科学会総会、2008 年 4 月 11 日、東京
- (5) 近藤龍也、一般演題「温熱・電流同時印加療法(MET)による db/db マウスのインスリン分泌改善効果」、第 2 回臨床応答ストレス学会、2007 年 11 月 30 日、福岡
- (6) 近藤龍也、一般演題「温熱・電流同時印加療法(MET)による db/db マウスのインスリン分泌改善効果」、第 45 回日本糖尿病学会九州地方会、2007 年 10 月 12 日、宮崎
- (7) 近藤龍也、シンポジウム「2 型糖尿病の成因と新しい治療法」、第 45 回日本糖尿病学会九州地方会、2007 年 10 月 12 日、宮崎
- (8) 近藤龍也、「局所ハイパーサーミアと微弱電流併用による 2 型糖尿病モデル (db/db) マウスのインスリン分泌改善効果」、第 24 回日本ハイパーサーミア学会、2007 年 9 月 14 日、前橋
- (9) 近藤龍也、シンポジウム「膵細胞機能障害における小胞体ストレスの関与と分子シャペロン誘導による膵細胞保護」、第 50 回日本糖尿病学会年次学術集会、2007 年 5 月 24 日、仙台
- (10) 近藤龍也、一般演題「温熱・電流同時印加療法(MET)による db/db マウスのインスリン分泌改善効果」、第 50 回日本糖尿病学会年次学術集会、2007 年 5 月 24 日、仙台

〔図書〕(計 1 件)

近藤龍也、森野沙緒里、甲斐広文、荒木栄一、メディカルレビュー社

Diabetes Frontier 第 20 卷 6 号 肥満治療
の最前線、92～96 頁 9. 内臓脂肪に対する
温熱微弱電流併用療法の効果 2009

6 . 研究組織

(1)研究代表者

宮村 信博 (MIYAMURA NOBUHIRO)
熊本大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：40274716

(2)研究分担者

近藤 龍也 (KONDO TATSUYA)
熊本大学・医学部附属病院・医員
研究者番号：70398204

(3)連携研究者

荒木 栄一 (ARAKI EIICHI) (2008年
度は研究分担者)
熊本大学・大学院医学薬学研究部・教授
研究者番号：10253733

下田 誠也 (SHIMODA SEIYA) (2008
年度は研究分担者)
熊本大学・大学院医学薬学研究部・助教
研究者番号：60398203