

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：19591058

研究課題名(和文) 温熱電流同時印加によるインスリン抵抗性改善・内臓脂肪減少の分子メカニズム解析

研究課題名(英文) The molecular mechanisms of improvement of insulin resistance and reduction of visceral fat by combination of mild electrical current and thermo therapy.

研究代表者：

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

研究成果の概要：温熱と微弱電流の同時付与により、肝臓で増加 6 遺伝子・減少 100 遺伝子、皮下脂肪で増加 100 遺伝子・減少 5 遺伝子、筋肉で増加 97 遺伝子・減少 53 遺伝子、腸間膜脂肪で増加 63 遺伝子・減少 43 遺伝子を同定した。興味深い変動を示す遺伝子や機能的関連を示す遺伝子の発現レベルを定量的 RT-PCR や Western Blot で確認している。その結果で糖代謝関連候補遺伝子群を絞り、それらの発現制御による皮下脂肪・内臓脂肪量・耐糖能およびインスリン抵抗性の解析を目指す。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2008年度	2,000,000	600,000	2,600,000
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：温熱、微弱電流、インスリン抵抗性、内臓脂肪

1. 研究開始当初の背景

2 型糖尿病の代謝異常・内臓脂肪過多に対する新規治療法として温熱と微弱電流の同時負荷が有効であった。

しかし、いかなるメカニズムで温熱・微弱電流が内臓脂肪を減らし、インスリン抵抗性・糖代謝を改善するのか不明であった。

2. 研究の目的

温熱・微弱電流の作用でどのような遺伝子・蛋白発現が制御を受け、糖代謝に有益な方向に働くのかを同定する。また、同定した新規糖代謝関連遺伝子の発現調節により糖代謝が改善しうるか否かを検討することを目的とした。

3. 研究の方法

糖尿病状態を示す高脂肪食負荷マウスや db/db マウスに温熱・微弱電流を同時負荷し、インスリン抵抗性・糖代謝の改善を確認する。その動物の諸臓器を摘出し、網羅的遺伝子発現解析する。

4. 研究成果

高脂肪食負荷にて糖尿病を誘発したマウスとそれに温熱・微弱電流を同時負荷したマウス(42、10分、週2回、10週間)の肝臓・皮下脂肪・筋肉・腸間膜脂肪を摘出し total RNA 抽出から網羅的遺伝子発現解析を行った。

肝臓で発現増加している遺伝子 6・減少 100、皮下脂肪で増加 100・減少 5、筋肉で増加 97・減少 53、腸間膜脂肪で増加 63・減少 43 遺伝子を同定した。主な変動遺伝子群を下記に示す。

Liver down

Glucokinase
EIF 4E binding protein 2
Glutathione S-transferase, alpha 4
HIP kinase 2
Spindlin 1
STAT 3
Nr0b2
Herp
Dimethylarginine
dimethylaminohydrolase 1

Sq up

Adrenergic receptor, beta 3
Adipocyte enhancer-binding protein 1

cytochrome c oxidase, subunit VI a, polypeptide 2
cytochrome c oxidase, subunit VIIIb

Cytochrome P450, family 2, subfamily

e, polypeptide 1
Early growth response 1
Superoxide dismutase 3, extracellular

Solute carrier family 27 (fatty acid transporter), member 1
Hsp40
Carboxylesterase 3
Hsp20

Sq down

F11 receptor

Muscle up

Adiponectin
Annexin A5
Amine oxidase, copper containing 3
aP2
Caveolin, caveolae protein 1,
Caveolin 2
CD1d1 antigen
CD59a antigen
Cytochrome P450, family 2, subfamily
e, polypeptide 1
FAS
Cell death-inducing DFFA-like
effector c
Haptoglobin
NADP+, soluble
Insulin-like growth factor 1
Igf1bp10
Leptin
Lipase, hormone sensitive
Marks
Mesoderm specific transcript
Nidogen 1=entactin-1
Pyruvate carboxylase
Paternally expressed 3=PW1

SCD1
SCD2
CAP
Superoxide dismutase 3, extracellular

Transketolase
MGST1
Resistin
Angptl4
Carboxylesterase 3
chemerin

Muscle down

Connective tissue growth factor
Gap junction protein, alpha 1=Cx43
p110 alpha
Paired related homeobox 1
Bex1
Myozenin 2=calsarcin-1
Hsp27

Mesenteric fat up

Cytochrome P450, family 2, subfamily
e, polypeptide 1
Desmin
Gap junction protein, alpha 1=Cx43
Kinesin family member 5B
Myosin, heavy polypeptide 11, smooth
muscle
SUR2A; SUR2B
Chemokine (C-X-C motif) ligand 13
Sarcolemma associated protein
Hsp20
Transgelin

Mesenteric fat down

Carboxyl ester lipase
FABP2

G-protein-coupled receptor 50
Kruppel-like factor 4
Lysosomal acid lipase A
Colipase, pancreatic

以上のような候補遺伝子の中で、興味深い変動を示す遺伝子などの発現レベルを定量的 RT-PCR で確認している。糖代謝関連候補遺伝子群を絞り、それらの発現制御による皮下脂肪・内臓脂肪量・耐糖能およびインスリン抵抗性の解析を目指している。

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 Y, 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 巻 6 号、92~96 頁
肥満治療の最前線 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

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

(2)研究分担者

水流添 覚 (TSURUZOE KAKU)
熊本大学・医学部附属病院・助教
研究者番号 : 50398202

本島 寛之 (MOTOSHIMA HIROYUKI)
熊本大学・医学部附属病院・医員
研究者番号 : 40398201

松村 剛 (MATSUMURA TAKESHI)
熊本大学・医学部附属病院・医員
研究者番号 : 20398192

(3)連携研究者:なし