

平成 22 年 5 月 31 日現在

研究種目：若手研究(B)  
研究期間：2008～2009  
課題番号：20700566  
研究課題名（和文）脂肪細胞分化成熟制御因子WNT5Bの2型糖尿病疾患感受性に与える影響の解析  
研究課題名（英文）Roles of wingless-related MMTV integration site 5B in type 2 diabetes mellitus  
研究代表者  
久保田 浩之（卯木 浩之）(Kubota Hiroyuki)  
独立行政法人理化学研究所・内分泌・代謝疾患研究チーム・研究員  
研究者番号：40323290

## 研究成果の概要（和文）：

2型糖尿病関連遺伝子wingless-type mammary tumor virus integration-site family member 5B (WNT5B)のインスリン分泌に対する影響について検討を行った。Wnt5Bを過剰発現した単離ラ氏島ではインスリンの基礎分泌量、ならびにグルコース誘導性インスリン分泌量が上昇する傾向を認めたが、インスリン含量に明らかな差は認められなかった。Wnt5Bはインスリン発現よりも、むしろインスリン分泌を調節することにより2型糖尿病の発症に関与する可能性が考えられる。

## 研究成果の概要（英文）：

In this study, we examined the effects of wingless-type mammary tumor virus integration-site family member 5B (WNT5B) on insulin secretion by using islets isolated from mouse. Overexpression of WNT5B in the islets increased both basal and glucose-induced insulin secretion from the islets, however, did not induce insulin expression. From the current study, wnt5b may be involved in the progression of type 2 diabetes by modulating insulin secretion from islets.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学 ・応用健康科学

キーワード：WNT5B、インスリン分泌、ラ氏島

## 1. 研究開始当初の背景

日本人の糖尿病患者数は増加の一途をたどっており、約 1620 万人にも上ると試算される糖尿病有病者の減少は急務の課題であることはもちろん、医療経済学においても深刻な問題となりつつある。糖尿病の大部分を占める 2 型糖尿病ではインスリン分泌障害とインスリン抵抗性が病態の基礎にあり、近年、生活習慣による内臓脂肪蓄積とインスリン抵抗性との関連が注目されている。

申請者の所属する研究チームでは、これまでに JSNP データベースを基盤としたケースコントロール関連解析により wingless-type mammary tumor virus integration-site family member 5B (WNT5B) を新規 2 型糖尿病疾患感受性遺伝子として同定した。さらにこの WNT5B 遺伝子が脂肪細胞の分化促進と脂肪細胞分化関連遺伝子発現の変動に関与することを明らかにするとともに (Kanazawa et al. Am J Hum Genet, 2004)、その機序として一部 WNT5B による古典的 Wnt シグナル経路の阻害が関与する事を報告した (Kanazawa et al. BBRC 2005)。

## 2. 研究の目的

本研究では 2 型糖尿病疾患感受性遺伝子として同定された WNT5B 遺伝子に注目して脂肪細胞やインスリン分泌細胞での検討を行い、2 型糖尿病疾患感受性に関与する分子機構を解明することを目的とする。すなわち、培養脂肪細胞やインスリン分泌細胞などを用いて WNT5B の発現、ならびにインスリン分泌能やインスリン抵抗性発症との関連を *in vitro* の系で解析する。

## 3. 研究の方法

3T3-L1 脂肪細胞のトリグリセリド蓄積過程における WNT5B の発現変動、ならびにトリグリセリド蓄積量の異なる脂肪細胞における WNT5B 発現とトリグリセリド蓄積量との関連について検討した。インスリン分泌に関する検討では正常マウスより単離したラ氏島を用い、WNT5B 発現、グルコース誘導性インスリン分泌等の予備検討を行った後に WNT5B アデノウイルスを用いた WNT5B 遺伝子の過剰発現によるインスリン分泌能の変化を検討した。

## 4. 研究成果

3T3-L1 脂肪細胞内へのトリグリセリド蓄積過程では WNT5B 発現が低下し、細胞内トリグリセリド蓄積量と WNT5B 発現は負の相関を示した。単離ラ氏島を用いた検討では、Wnt5B の過剰発現によりインスリンの基礎分泌量、ならびにグルコース誘導性インスリン分泌量が上昇する傾向を認めたもののインスリン含量に明らかな差は認められなかった。Wnt5B はインスリン発現よりも、むしろインスリン分泌を調節することにより 2 型糖尿病の発症に関与する可能性が考えられる。

## 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 11 件)

1. Pyridoxamine, an Inhibitor of Advanced Glycation End Product (AGE) Formation Ameliorates Insulin Resistance in Obese, Type 2 Diabetic Mice. Unoki-Kubota H, Yamagishi S, Takeuchi M, Bujo H, Saito Y. Protein & Peptide Letters, in press. (査読)

- 有り)
2. Maeda S, Kobayashi MA, Araki S, Babazono T, Freedman BI, Bostrom MA, Cooke JN, Toyoda M, Umezono T, Tarnow L, Hansen T, Gaede P, Jorsal A, Ng DP, Ikeda M, Yanagimoto T, Tsunoda T, Unoki H, Kawai K, Imanishi M, Suzuki D, Shin HD, Park KS, Kashiwagi A, Iwamoto Y, Kaku K, Kawamori R, Parving HH, Bowden DW, Pedersen O, Nakamura Y. A Single Nucleotide Polymorphism within the Acetyl-Coenzyme A Carboxylase Beta Gene Is Associated with Proteinuria in Patients with Type 2 Diabetes. *PLoS Genet.* 6(2):e1000842, 2010. (査読有り)
  3. Tsukada S, Kobayashi M, Omori S, Unoki H, Maeda S. Transcription factor AP-2 beta inhibits glucose-induced insulin secretion in cultured insulin-secreting cell-line. *Diabetes Res Clin Pract.* 85(3):279-85, 2009. (査読有り)
  4. Holmkvist J, Banasik K, Andersen G, Unoki H, Jensen TS, Pisinger C, Borch-Johnsen K, Sandbaek A, Lauritzen T, Brunak S, Maeda S, Hansen T, Pedersen O. The type 2 diabetes associated minor allele of rs2237895 KCNQ1 associates with reduced insulin release following an oral glucose load. *PLoS One.* 4(6):e5872, 2009. (査読有り)
  5. Kuramochi D, Unoki H, Bujo H, Kubota Y, Jiang M, Rikihisa N, Udagawa A, Yoshimoto S, Ichinose M, Saito Y. Matrix metalloproteinase 2 improves the transplanted adipocyte survival in mice. *Eur J Clin Invest.* 2008 Oct;38(10):752-9. (査読有り)
  6. Unoki H, Takahashi A, Kawaguchi T, Hara K, Horikoshi M, Andersen G, Ng DP, Holmkvist J, Borch-Johnsen K, Jørgensen T, Sandbaek A, Lauritzen T, Hansen T, Nurbaya S, Tsunoda T, Kubo M, Babazono T, Hirose H, Hayashi M, Iwamoto Y, Kashiwagi A, Kaku K, Kawamori R, Tai ES, Pedersen O, Kamatani N, Kadowaki T, Kikkawa R, Nakamura Y, Maeda S. SNPs in KCNQ1 are associated with susceptibility to type 2 diabetes in East Asian and European populations. *Nat Genet.* 2008 Sep;40(9):1098-102. (査読有り)
  7. Kawamura T, Murakami K, Bujo H, Unoki H, Jiang M, Nakayama T, Saito Y. Matrix metalloproteinase-3 enhances the free fatty acids-induced VEGF expression in adipocytes through toll-like receptor 2. *Exp Biol Med.* 2008 Oct;233(10):1213-21. (査読有り)
  8. Jiang M, Bujo H, Ohwaki K, Unoki H, Yamazaki H, Kanaki T, Shibasaki M, Azuma K, Harigaya K, Schneider WJ, Saito Y. Ang II-stimulated migration of vascular smooth muscle cells is dependent on LR11 in mice. *J Clin Invest.* 2008 Aug;118(8):2733-46. (査読有り)
  9. Unoki H, and Yamagishi S. Advanced glycation end products and insulin resistance. *Curr Pharm Des.* 2008;14(10):987-9. (査読有り)
  10. Unoki H, Bujo H, Jiang M, Kawamura T, Murakami K, Saito Y. Macrophages regulate tumor necrosis factor- $\alpha$  expression in adipocytes through the secretion of matrix metalloproteinase-3. *Int J Obes.* 2008 Jun;32(6):902-11. (査読有り)
  11. Kubota Y, Unoki H, Bujo H, Rikihisa N, Udagawa A, Yoshimoto S, Ichinose M, Saito Y. Low-dose GH supplementation reduces the TLR2 and TNF- $\alpha$  expressions in visceral fat. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008 Mar 28;368(1):81-7. (査読有り)
- [学会発表] (計 9 件)
1. 卯木浩之、小林正明、荒木信一、馬場園哲也、川井紘一、今西政仁、岩本安彦、柏木厚典、河盛隆造、中村祐輔、前田士朗。SNPを用いた大規模ケースコントロール関連解析による糖尿病腎症疾患感受性遺伝子の同定。第 24 回日本糖尿病合併症学会。2009/10/9-10、岡山(2009)
  2. 卯木浩之、小林正明、荒木信一、馬場園哲也、川井紘一、今西政仁、岩本安彦、柏木厚典、河盛隆造、中村祐輔、前田士朗。SNPを用いた大規模ケースコントロール関連解析による糖尿病性腎症疾患感受性遺伝子の探索。日本人類遺伝学会第 54 回大会。2009/9/23-26、東京(2009)
  3. Unoki H, Kobayashi M, Araki S, Babazono T, Kawai K, Imanishi M, Iwamoto Y, Kashiwagi A, Kawamori R, Nakamura Y, Maeda S. Identification of a New Susceptibility Gene to Diabetic Nephropathy in Japanese Subjects with Type 2 Diabetes. American diabetes association 69th scientific

- session, 2009/6/5-9, New Orleans, USA
4. 卯木浩之、小林正明、荒木信一、馬場園哲也、川井紘一、今西政仁、岩本安彦、柏木厚典、河盛隆造、中村祐輔、前田士郎。大規模ケースコントロール相関解析による糖尿病性腎症感受性遺伝子の同定。第52回日本腎臓学会学術総会、2009/6/3-5、横浜
  5. 卯木浩之、小林正明、荒木信一、馬場園哲也、川井紘一、今西政仁、岩本安彦、柏木厚典、河盛隆造、中村祐輔、前田士郎。大規模ケースコントロール関連解析による糖尿病性腎症疾患感受性遺伝子の同定。第52回日本糖尿病学会年次学術集会、2009/5/21-24、大阪
  6. Unoki H, Kobayashi M, Araki S, Ng DP, Babazono T, Kawai K, Imanishi M, Iwamoto Y, Kashiwagi A, Kawamori R, Nakamura Y, Maeda S. Identification of a new susceptibility gene to diabetic nephropathy in Japanese subjects with type 2 diabetes. The American society of nephrology 42nd Annual Meeting & Scientific Exposition, 2008/11/4-9, Philadelphia, USA
  7. 卯木浩之、塚田修市、柏木厚典、加来浩平、門脇孝、河盛隆造、中村祐輔、前田士郎。SNPを用いたゲノムワイド相関解析による2型糖尿病疾患感受性遺伝子の探索。第23回日本糖尿病合併症学会、2008/10/3-4、東京
  8. 卯木浩之、塚田修市、柏木厚典、加来浩平、門脇孝、河盛隆造、中村祐輔、前田士郎。SNPを用いたゲノムワイド相関解析による2型糖尿病疾患感受性遺伝子の探索。日本人類遺伝学会第53回大会、2008/9/27-30、横浜
  9. 卯木浩之、塚田修市、柏木厚典、加来浩平、門脇孝、河盛隆造、吉川隆一、中村祐輔、前田士郎。SNPを用いたゲノムワイドケースコントロール相関解析による2型糖尿病疾患感受性遺伝子の同定。第51回日本糖尿病学会年次学術集会、2008/5/22-24、東京

〔図書〕 (計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

久保田 浩之 (卯木 浩之) (Kubota Hiroyuki)  
独立行政法人理化学研究所・内分泌・代謝疾患研究チーム・研究員  
研究者番号：40323290