

機関番号：32620

研究種目：若手研究 B

研究期間：2008～2010

課題番号：20790655

研究課題名(和文) 肝インスリン抵抗性における酸化ストレスの役割

研究課題名(英文) The role of oxidative stress in hepatic insulin resistance

研究代表者

内田 豊義(Uchida Toyoyoshi)

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号：90465055

研究成果の概要(和文)：

(目的) 酸化ストレス(ROS)はインスリン抵抗性の原因として広く認識されつつあるが、肝臓の酸化ストレスの軽減効果については詳細不明であり、この効果及び機序を解明する目的で検討を行い、肝臓の酸化ストレスの軽減は肝インスリン抵抗性の治療標的として有用であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：

Recent studies identified accumulation of reactive oxygen species (ROS) as a common pathway causing insulin resistance. However, whether and how the reduction of ROS levels improves insulin resistance remains to be elucidated. We established that the reduction of ROS is a potential therapeutic target of liver insulin resistance.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	840,000	360,000	1,200,000
2009年度	700,000	300,000	1,000,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	2,540,000	960,000	3,500,000

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：メタボリックシンドローム・インスリン抵抗性

1. 研究開始当初の背景

近年、特に日本においては、ライフスタイルの変化によりインスリン抵抗性を有する人の数が急増しており、インスリン抵抗性の詳細な発症メカニズム、病態生理に関しては未

だ不明な点が多い。インスリン抵抗性の中心的役割を担っている分子として細胞内活性酸素種(Reactive Oxygen Spiece ; ROS)が知られている。しかし、ROSの増加がどのような機序で肝臓や末梢組織におけるインスリ

ン抵抗性を誘導するかは明らかにされていない。我々は以前より様々なストレスにより活性化されるシグナルと肝臓のインスリン抵抗性の関係について検討を行ってきた。(Tamura Y, Uchida T, et al., Amelioration of glucose tolerance by hepatic inhibition of nuclear factor kappaB in db/db mice. Diabetologia. 2007 ;50(1):131-41)

2. 研究の目的

酸化ストレス(ROS)はインスリン抵抗性の原因として広く認識されつつあるが、肝臓の酸化ストレスの軽減効果については詳細不明であり、この効果及び機序を解明する目的で本研究を行なった。

3. 研究の方法

アデノウイルスベクターを用いて、Superoxide dismutase1(SOD1)を肥満糖尿病モデルマウス(*db/db*)の肝特異的に過剰発現し、検討した。

4. 研究成果

db/db の肝臓の酸化ストレスはコントロールマウス(*db/m*)に比べて亢進していたが、肝への SOD1 過剰発現(AdSOD1)は肝臓の酸化ストレスを軽減し、血糖値、耐糖能及びインスリン抵抗性も有意に改善した(図 1)。ピルビン酸負荷試験の結果、糖新生の有意な抑制が認められ、これが肝臓の酸化ストレス軽減による全身の糖代謝改善の機序の一つとして考えられた(図 2)。さらに、肝糖新生調節遺伝子(phosphoenol-pyruvate carboxykinase と peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α (PGC-1 α))の発現低下が認められ(図 3)、それらを正に調節する cAMP-responsive element-binding protein (CREB)のリン酸化が減弱し、負に調

節する forkhead box class O1 (FoxO1)のリン酸化が増強しており、酸化ストレスはこれらのリン酸化の調節を介して肝糖新生を調節していることが示唆された(図 4)。In vitro の検討により、ROS-JNK-CREB-PGC-1 α という新規のシグナルが少なくとも一部に關与していることが示唆された(図5)。また、インスリンシグナルはAktのリン酸化レベルでは変化しておらず、ROS による Akt 非依存性の FoxO1 のリン酸化調節も示唆された。

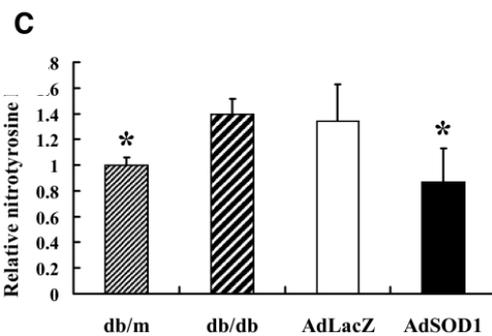
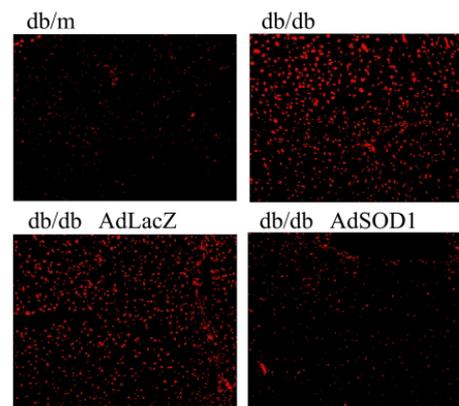
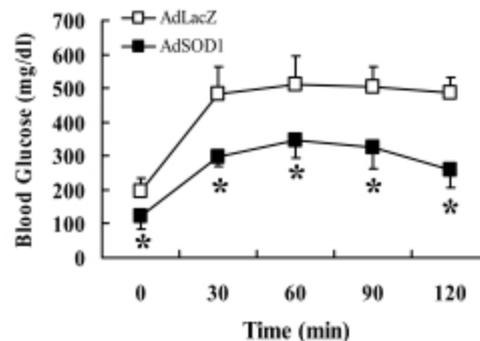


図 1. *db/db* マウス肝臓における酸化ストレス亢進と SOD1 過剰発現による酸化ストレス改善効果
上段は酸化ストレスを評価のする為の DHE 染色度、下段はニトロ化チロシン定量的解析



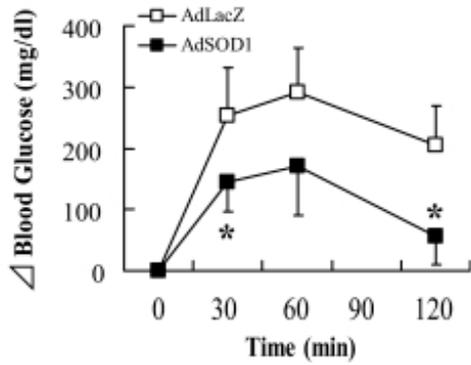
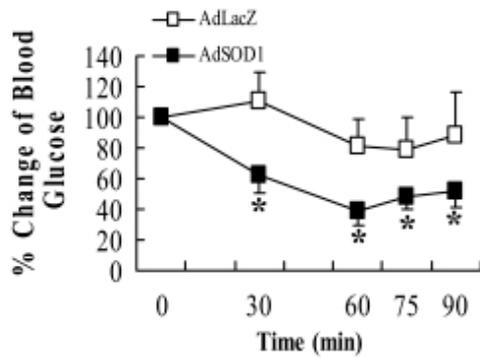


図 2. db/db マウス肝臓への SOD1 過剰発現による糖代謝への効果 上段は耐糖能を評価する為の腹腔内ブドウ糖負荷試験、中段はインスリン感受性を評価する為のインスリン負荷試験、下段は肝臓の糖新生を評価する為のピルビン酸負荷試験

* $P < 0.05$ vs. AdLacZ and PBS groups.

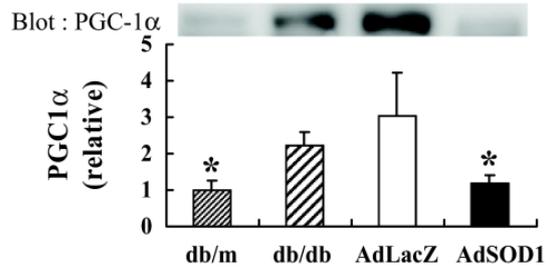
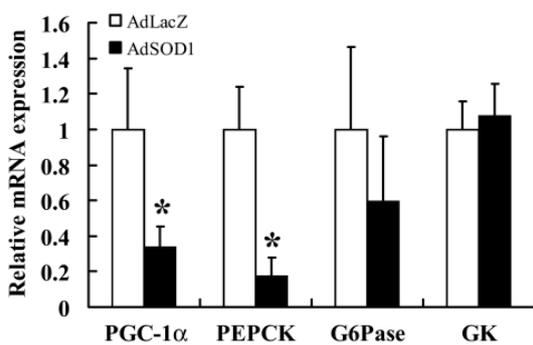


図 3. db/db マウス肝臓への SOD1 過剰発現による肝糖新生調節分子の発現への効果 上段は肝糖新生調節遺伝子発現、下段は PGC-1αタンパク発現
* $P < 0.05$ vs. db/db and AdLacZ groups.

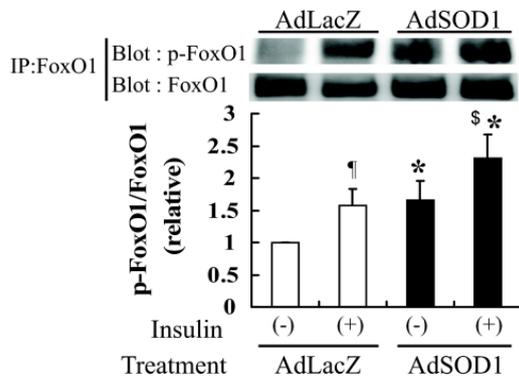
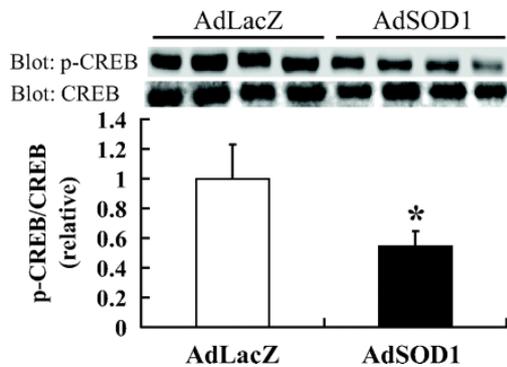


図 4. db/db マウス肝臓への SOD1 過剰発現による cAMP-responsive element-binding protein (CREB) および FOX-1 リン酸化への効果 上段は CREB、下段は FOX-1 リン酸化レベル
¶ $P < 0.05$ vs. AdLacZ insulin[-] group; \$ $P < 0.05$ vs. AdSOD1 insulin [-] group; * $P < 0.05$ vs. AdLacZ groups.

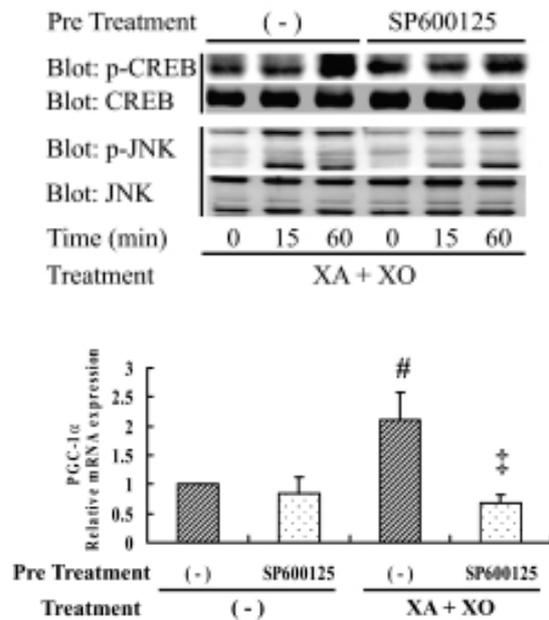


図 4. 肝腫瘍細胞 Huh7 を用いた酸化ストレスに対する JNK-CREB-PGC-1 α シグナルの関与の検討; 400 μ mol/l xanthine (XA)および 40 mU/ml xanthine oxidase (XO)による細胞内酸化ストレスの誘導。SP600125; JNK 阻害薬、上段は JNK 阻害薬による CREB リン酸化の抑制作用、下段は酸化ストレス誘導刺激による PGC-1 発現の誘導と JNK 阻害薬によるそのシグナル抑制効果
 $\#P < 0.05$ vs. pretreatment- \emptyset before XA and XO treatment. $\ddagger P < 0.05$ vs. pretreatment- \emptyset after XA and XO treatment for 180 min.

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

Impact of oxidative stress and peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1alpha in hepatic insulin resistance. Kumashiro N, Tamura Y, Uchida T, Ogihara T, Fujitani Y, Hirose T, Mochizuki H, Kawamori R, Watada H. Diabetes. 2008;57(8):2083-91.

[学会発表] (計 2 件)

○第 19 回 分子糖尿病シンポジウム(2007 年 12 月 8 日;神戸)「肝臓での酸化ストレスによる糖代謝制御機構—CREB のリン酸化を介した新規糖代謝メカニズムの検討」

○第 81 回 日本内分泌学会学術総会(2008 年 5 月 16 日~18 日;青森) 第 9 回若手研究奨励賞受賞「肝インスリン抵抗性における酸化ストレスと PGC-1 α の重要性」

[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

内田 豊義 (Uchida Toyoyoshi)

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号：90465055

(2) 研究分担者

該当者なし

(3) 連携研究者

該当者なし