

令和 5 年 6 月 4 日現在

機関番号：35303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08897

研究課題名(和文)糖代謝調節における腎消化管連関の解明

研究課題名(英文)Renal-Gastrointestinal Interactions in the Regulation of Glucose Metabolism

研究代表者

下田 将司 (Shimoda, Masashi)

川崎医科大学・医学部・講師

研究者番号：60388957

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：SGLT2阻害薬は強制的尿糖排泄により血糖かつ体重を是正する薬である。エネルギー恒常性維持の観点から、SGLT2阻害薬慢性投与下では何らかのエネルギー恒常性維持機構が働く可能性がある。仮説検証のために、糖尿病モデル、正常血糖モデルマウスをLuseoglitazone (Luse)群、Control (Cont)群に群別し2週間介入した。両モデルにてLuse群は消化管グルコース輸送担体、インクレチン関連遺伝子の発現が増加し、グルコース吸収やインクレチン分泌が亢進していた。正常血糖モデルにて事象が確認されたことは、血糖変動とは独立した臓器連関が示唆され、腎-消化管や肝-消化管連関を検証中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

SGLT2阻害薬は、2型糖尿病患者のみならず1型糖尿病患者、心不全患者、慢性腎臓病患者の健康寿命およびQOLの維持に寄与できる薬剤として多くの症例で用いられている。一方で、SGLT2阻害薬が及ぼす影響について未解明な部分も残されており、本研究はエネルギー恒常性維持の観点から、SGLT2阻害薬投与時に起こる消化管糖輸送の変化を検討したものであり、基礎医学および臨床医学において示唆に富むと考えている。

研究成果の概要(英文)：SGLT2 inhibitors correct blood glucose and body weight through forced urinary glucose excretion. From the perspective of energy homeostasis, it is possible that some mechanism of energy homeostasis may be at work under chronic administration of SGLT2 inhibitors. To test the hypothesis, diabetic and normoglycemic mouse models were divided into Luseoglitazone (Luse) and Control (Cont) groups for 2 weeks. In both models, the Luse group showed increased expression of gastrointestinal glucose transporters and incretin-related genes, and increased glucose absorption and incretin secretion. The fact that the events were observed in the normoglycemic model suggests that there is an organ system interaction independent of blood glucose fluctuations, and the renal-gastrointestinal and hepatic-gastrointestinal interactions are under investigation.

研究分野：糖尿病

キーワード：SGLT2阻害薬 消化管糖輸送

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Sodium glucose co-transporter 2 (SGLT2) 阻害薬は、尿糖排泄を促進し血糖を改善するとともに energy loss により体重を減少させ、血圧、脂質、尿酸に対しても好影響を及ぼす。申請者らは、肥満 2 型糖尿病モデル *db/db* マウスに対し SGLT2 阻害薬 luseogliflozin を投与し、糖毒性およびインスリン抵抗性の改善により膵細胞保護効果を発揮すること (Okachi S, Shimoda M, et al. Biochem Biophys Res Commun 470(3): 772-782, 2016) またその効果は病態がより早期であるほど顕著であること (Kimura T, Shimoda M et al Diabetes Obes Metab 20(10): 2442-2457, 2018) を報告している。これらのことは、SGLT2 阻害薬が 2 型糖尿病の病態改善そして糖尿病管理目標達成の更なる向上に寄与し得ることを示唆する。

2 型糖尿病患者に対する SGLT2 阻害薬投与は約 70g のグルコースの体外排泄をもたらし、その尿糖排泄作用、体重減少効果は 4 年の投与期間中維持されていたことが報告されている。しかし、SGLT2 阻害薬の長期使用時の有効性と安全性については不明な点も残されている。実臨床において SGLT2 阻害薬投与後に食欲亢進を訴える患者がみられ、これはエネルギー恒常性維持のための防御機構の存在が示唆される。そこで、我々はそのエネルギー恒常性維持機構の一つとして、グルコースの体外排泄調節を担う『腎臓』とグルコースの体内流入調節を担う『消化管』の関係に着目した。

2. 研究の目的

エネルギー恒常性維持の観点から、SGLT2 阻害薬投与による慢性的な尿中グルコース排泄の増加が消化管グルコース輸送に与える影響について検討し、影響がみられた場合にはそのメカニズムについて検討する。

3. 研究の方法

SGLT2 阻害薬 luseogliflozin は高濃度においては消化管 SGLT1 を阻害し消化管グルコース輸送を抑制する可能性があるため、実験当日は luseogliflozin は投与しない。

【肥満 2 型糖尿病モデル *db/db* マウスを対象とした検討】

2 型糖尿病患者を想定し耐糖能異常を認めるモデルを用い、luseogliflozin 投与群と vehicle 投与群にて比較検討する。

SGLT2 阻害薬の慢性投与が小腸グルコース取り込みに与える影響

db/db マウスに対し luseogliflozin 0.0025% を 2 週間投与し、実験当日は luseogliflozin を投与せず 2-Deoxy-D-glucose (2-DG) を投与し、15 分後に十二指腸、小腸上部、中部、下部を採取し、非 Radio Isotope (RI) 法により 2-DG 取り込み量を測定する。

SGLT2 阻害薬の慢性投与が消化管関連ホルモン (glucose dependent insulintropic peptide: GIP, glucagon-like peptide-1: GLP-1) 分泌に与える影響

db/db マウスに対し luseogliflozin 0.0025% を 2 週間投与し、経口ブドウ糖負荷試験当日は、luseogliflozin 非投与条件下において経口ブドウ糖負荷試験を行い、負荷前、負荷後 30 分、60 分、90 分、120 分と採血を行い、血漿 GIP および GLP-1 濃度を ELISA 法にて測定する。

SGLT2 阻害薬の慢性投与が消化管の遺伝子発現に及ぼす影響

および得られる結果のメカニズムを検討するために、real-time RT PCR 法にて消化管グルコース輸送に関連する遺伝子、および消化管関連ホルモン遺伝子の発現量について確認する。検討項目: sodium glucose co-transporter (SGLT)1, glucose transporter (GLUT)2, GIP, progucagon

【正常耐糖能モデル *db/m* マウスを対象とした検討】

肥満 2 型糖尿病モデルでみられた事象について、血糖非依存的機構の存在を確認するために耐糖能異常を認めないモデル *db/m* マウスを用い、luseogliflozin 投与群と vehicle 投与群にて比較検討する。検討事項は *db/db* マウスの項に記載した ~ と同様である。

【血糖非依存的機構の解明を目的とした検討】

『腎臓でのグルコース喪失感知機構』についての検討

肥満糖尿病モデル *db/db* マウスを luseogliflozin 投与群と非投与群に群別し、2 週間介入後に臓器摘出し、以下の項目について 2 群間比較を行う。

- A. 腎臓における AMP-activated protein kinase (AMPK) リン酸化程度の比較
- B. 腎臓における解糖系 (Glucokinase:GCK) 脂肪酸酸化 (carnitine palmitoyltransferase-1:CPT-1) ケトン体代謝 (hydroxybutyrate dehydrogenase:BDH, Oxoacid CoA transferase-1:OXCT-1, acetyl-Coenzyme A acetyltransferase 1:ACAT-1、グルタミン酸代謝 (glutamic

oxaloacetic transaminase:GOT)、乳酸代謝 (lactate Dehydrogenase:LDH、pyruvate dehydrogenase:PDH) に重要な遺伝子発現、さらには Sirtuin-1 遺伝子発現の比較

C. A,B で説明が見つからない場合、以下の検討を行う。

腎臓における neuropeptide Y (NPY)、Agouti related protein (Agrp) 等の遺伝子発現量の比較 (視床下部では、NPY、Agrp や Orexin がグルコース減少感知機構として重要である。腎臓でも発現が報告されるが、その役割は不明な点も多い。)

D. 腎臓における交感神経活性 (アドレナリン、ノルアドレナリン濃度) の違い

で説明が見つからない場合、以下の検討を行う。

『肝臓を介した消化管グルコース輸送変化』についての検討

A. 肝グリコーゲンの減少を介した機序

A-1: 肝グリコーゲン含量の比較

A-2: 肝グリコーゲン代謝関連遺伝子の発現量の比較

A-3: 摂餌制限モデルマウス (肝グリコーゲン減少モデル) にて、SGLT2 阻害薬と同様の現象、消化管グルコース輸送 (消化管 2-DG uptake、経口糖負荷試験時血漿 GIP、GLP-1 濃度) の変化が生じるかを検討する。

4. 研究成果

【肥満 2 型糖尿病モデル db/db マウスを対象とした検討】

2 週間投与後に、消化管における 2-DG 取り込み量を比較したところ、vehicle 群に比し、luseogliflozin 群で消化管各部位における 2-DG 取り込みが亢進し、グルコース輸送担体遺伝子 (SGLT1、GLUT2) およびインクレチン関連遺伝子 (GIP、GLP-1) の発現も有意に増加していた。さらに、経口ブドウ糖負荷試験にて血漿 GIP および GLP-1 濃度の推移は luseogliflozin 群で高値であった。これらの結果は、SGLT2 阻害薬投与による腎消化管連関の存在の可能性を示唆する。

【正常耐糖能モデル db/m マウスを対象とした検討】

2 週間介入後に、消化管における 2-DG 取り込み量を比較したところ、vehicle 群に比し、luseogliflozin 群で消化管各部位における 2-DG 取り込みが亢進し、グルコース輸送担体遺伝子 (SGLT1、GLUT2) およびインクレチン関連遺伝子 (GIP、GLP-1) の発現も有意に増加していた。さらに、経口ブドウ糖負荷試験にて血漿 GIP 濃度の推移は両群間に有意な差は見られなかったが、血漿 GLP-1 濃度の推移は luseogliflozin 群でより高値であった。これらの結果は、SGLT2 阻害薬投与時の消化管グルコース吸収の亢進について血糖非依存的な機構が存在する可能性を示唆する。

【血糖非依存的機構の解明を目的とした検討】

『腎臓でのグルコース喪失感知機構』についての検討

2 週間介入後に、db/db マウスおよび db/m マウス腎組織の GCK、CPT-1、BDH、OXCT-1、ACAT-1、GOT、LDH、PDH、さらには Sirtuin-1 遺伝子発現について vehicle 群と luseogliflozin 群で比較したところ差がなく、さらには、腎組織での AMPK リン酸化レベルについても群間差はなかった。そこで、腎臓における NPY、Agrp や Orexin 遺伝子発現量の比較を行ったが群間差はなかった。腎臓における交感神経活性 (アドレナリン、ノルアドレナリン濃度) についても db/db マウスおよび db/m マウスにて検討したが群間差は確認できなかった。

『肝臓を介した消化管グルコース輸送変化』についての検討

2 週間介入後に、db/db マウスおよび db/m マウス肝臓内グリコーゲン量を測定したところ、vehicle 群に比し luseogliflozin 群で有意に減少していた。グリコーゲン分解に寄与する glycogen phosphorylase (Pygl) は db/db マウスで有意な変化はなかったが、db/m マウスでは有意に発現が増加していた。また、糖新生関連遺伝子 phosphoenolpyruvate carboxykinase 1 (PEPCK) 遺伝子発現量は luseogliflozin 群で有意に上昇していた。

次に、肝グリコーゲン減少が消化管グルコース輸送に与える影響を別のモデルで検証するために、db/m マウスの摂餌量と同量を給餌する摂餌制限モデル db/db マウス (肝グリコーゲン減少モデル) にて、SGLT2 阻害薬と同様の現象、消化管グルコース輸送 (消化管 2-DG uptake、経口糖負荷試験時血漿 GIP、GLP-1 濃度) の変化が生じるかを検討した。2 週間の介入期間中、空腹時血糖に差はなかったが、摂餌制限モデルにて有意に体重増加は抑制されベースラインより減少した。2 週間摂餌制限後に、消化管における 2-DG 取り込み量を比較したところ、vehicle 群に比し、luseogliflozin 群で消化管における 2-DG 取り込みが有意に減少し、グルコース輸送担体遺伝子 (SGLT1、GLUT2) およびインクレチン関連遺伝子 (GIP、GLP-1) の発現も有意に減少していた。これら消化管で確認された現象は、肝グリコーゲン減少を介した機序というよりもむしろ、摂餌量減少に伴う直接的な影響が示唆され、肝臓を介した機序を解明するためのモデルマウスとしては適していないことが分かった。

肝臓における交感神経活性 (アドレナリン、ノルアドレナリン濃度) について db/db マウスおよび db/m マウスにて検討したが群間差は確認できなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	野上 裕加 (Nogami Yuka)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関