

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：13701

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K19673

研究課題名（和文）GIPによる脂肪組織ChREBP発現調節機構に注目した肥満治療法の開発

研究課題名（英文）Development of obesity treatment methods focusing on the regulatory mechanism of adipose tissue ChREBP expression by GIP

研究代表者

劉彦言（LIU, YANYAN）

岐阜大学・大学院医学系研究科・研究員

研究者番号：10845796

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）：グルコース活性化転写因子carbohydrate response element-binding protein (ChREBP)は脂肪合成系遺伝子発現を調節する転写因子である。肥満の進展と共に脂肪組織のChREBP活性が低下し、グルコース処理能を低下させるが、脂肪組織におけるChREBP活性制御機構は不明である。今回、肥満状態で増加する消化管ホルモンglucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP)が脂肪組織のChREBPの活性低下を引き起こす可能性明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトの脂肪組織におけるChREBPはインスリン感受性を予測し、脂肪組織特異的ChREBP欠損マウスはインスリン感受性が低下することが報告された。したがって、脂肪組織でのChREBP活性を高めることで脂肪組織のインスリン感受性を改善できる可能性がある。しかるに、脂肪細胞におけるChREBP活性の制御機構はこれまで不明であり、わずかにホルモン感受性リパーゼとの相互作用が知られているが、脂肪組織特異的にChREBP活性を高める薬剤は現在存在しない。肥満の進展の際に、脂肪組織におけるChREBPの低下メカニズムを解明すれば、新規肥満予防法の開発が期待できる。

研究成果の概要（英文）：The glucose-activating transcription factor carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) is a transcription factor that regulates adipose synthesis gene expression. ChREBP activity in adipose tissue decreases with the progression of obesity, resulting in reduced glucose disposal capacity, but the regulatory mechanism of ChREBP activity in adipose tissue is still unknown. In the present study, we showed the effect of the gastrointestinal hormone glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP), that increases in the obese state, may cause a decrease in ChREBP activity in adipose tissue.

研究分野：代謝

キーワード：Chrebp incretin

1. 研究開始当初の背景

日本人は元来、インスリン分泌能が低いため、インスリン抵抗性がわずかに加わることで糖尿病を発症するためインクレチンや膵細胞を標的とした糖尿病治療薬が広く用いられてきた[1]。一方、近年、食事の欧米化や運動不足が原因となり、若年層では肥満の糖尿病患者が激増しており、糖尿病の発症や重症化予防に向け、インスリン抵抗性改善および肥満の予防に資する新規の治療開発の重要性が増している。

肥満の際に高血糖を来すことが知られている。高血糖による活性化される因子ChREBPは、解糖系・脂肪合成系遺伝子発現を調節することで、糖質から脂肪への変換を促進する。ChREBPは肝臓、脂肪組織、小腸及び膵島に発現され、ChREBPの抑制により、肥満モデルマウスであるob/obマウスで見られる耐糖能障害、肥満などの代謝障害が改善することが明らかされている[2]。一方で、食事摂取により腸管内分泌K細胞から分泌されたGIPは、膵細胞上のGIPRに結合し、グルコース存在下に膵細胞からのインスリン分泌を促進させるインクレチンである[3]。特に、GIPシグナルを遮断すると肥満やインスリン抵抗性の進展を抑制した[4,5,6]。GIPシグナルの活性化は、細胞内のcAMPを上昇させることで、生物学の効果を発揮する。一方で、ChREBPの転写活性はcAMP及びAMPKにより抑制されることから、肥満の際にGIPシグナルは脂肪細胞におけるChREBP活性の低下に関与することが予想されることから、本研究課題の着想にいたった。

2. 研究の目的

我々は肥満糖尿病の進展で見られるChREBP発現低下のメカニズムに脂肪組織でのGIPシグナルが関与するかについて以下の疑問を明らかにする。

GIPは脂肪組織ChREBPの活性を低下させるか？

肥満の際にGIPシグナルは脂肪細胞におけるChREBP活性の低下に関与するのか？

3. 研究の方法

GIPは脂肪組織ChREBPの活性を低下させるか？

1) 3T3L1細胞株における検討：分化した3T3L1細胞株を用いて、様々な濃度のGIP(1-100nM)を添加し、細胞内cAMP含量、ChREBPの発現量、2) デオキシグルコースを用いてグルコース取り込み能を検討し、グルコース取り込みとChREBPの発現量の相関を検討する。

2) マウスモデルにおける検討：

a. GIP短期投与

C57BL/6Jマウス(8週齢、オス)にGIP(50nmol/kg)を腹腔内投与し、血糖、インスリン、GIP、遊離脂肪酸、中性脂肪、コレステロールの血中濃度を測定すると共に、脂肪組織・肝臓のChREBPの発現量を検討した。さらに、分化した3T3F442A細胞株にGIP(100nM)を添加し、ChREBPの発現量を評価した。取り込み能を検討し、グルコース取り込みとChREBPの発現量の相関を検討する。

b. GIP長期投与

C57BL/6Jマウス(8週齢、オス)に通常食(NC)もしくは60%高脂肪食(HFD)を4週間負荷し、経口グルコース負荷試験(OGTT)を行い、血糖、インスリン、GIPを測定すると共に、脂肪組織・肝臓におけるChREBP、糖代謝酵素群、脂肪酸合成酵素群のmRNAの発現量を評価した。

肥満の際にGIPシグナルは脂肪細胞におけるChREBP活性の低下に関与するのか？

C57BL/6Jマウス、ChREBP^{-/-}マウス、GIPR^{-/-}マウス、ChREBP^{-/-}GIPR^{-/-}ダブルノックアウトマ

ウス (DKO) に高脂肪食 (HFD) を16週間負荷し、経口グルコース負荷試験 (OGTT) を行い、血糖、インスリン、GIPを測定すると共に、脂肪組織・肝臓におけるChREBP、糖代謝酵素群、脂肪酸合成酵素群のmRNAの発現量を評価した。

4. 研究成果

GIPは脂肪組織ChREBPの活性を低下させるか？

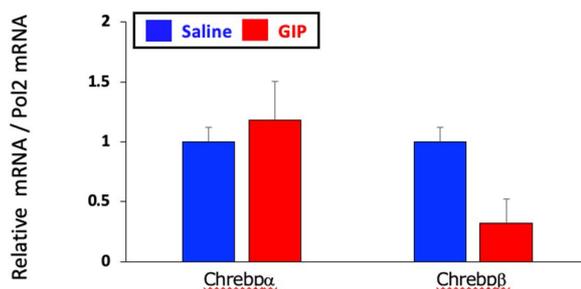
1) 3T3F442A細胞株における検討：分化した3T3F442A細胞株を用いて、様々な濃度のGIP(1-100nM)を添加し、生食群と比べ、GIPの投与により の優位な低下を認めた。

2) マウスモデルにおける検討：

a. GIP短期投与：生食群と比べ、GIP腹腔内投与後、30分、60分で血中GIP量の有意な上昇を認め、脂肪組織におけるChREBPの有意な発現低下を認めた。

b. GIP長期投与：HFDではNCに比して、体重、生殖器周囲脂肪重量、腸間膜脂肪重量の有意な低下を認めた。HFDでは負荷後2週、4週目に実施した経口ブドウ糖負荷試験 (OGTT) で耐糖能の悪化、インスリン、GIPの上昇を認めた。HFDでは脂肪組織におけるChREBP、fatty acid synthase、glucose transporter type 4の有意な発現低下を認め、肝臓におけるFASN、SREBP-1cの発現低下を認めた。

以上のデータにより、肥満状態で増加するGIPは、脂肪組織におけるChREBPの発現量を低下させることが示唆された

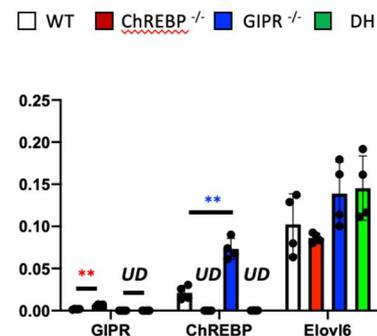


GIP投与により分化した脂肪細胞におけるChREBPβの発現低下を認めた

肥満の際にGIPシグナルは脂肪細胞におけるChREBP活性

の低下に与関するの？

16 週間の高脂肪食を負荷後、WT と比べ、GIPR^{-/-}および DKO マウスは体重の有意な低下が認められた。OGTT において、WT と比べ、GIPR^{-/-}および DKO マウスの耐糖能が有意に改善した。また、インスリン負荷試験 (ITT) において、GIPR^{-/-}マウスのインスリン抵抗性の有意な改善が認められた。さらに、脂肪組織における ChREBP および GLUT4 の発現量について、WT と比べ、GIPR^{-/-}マウスは有意に上昇した。以上のデータより、肥満の際に GIP のシグナルの遮断により ChREBP の活性が上昇することを示唆した。



5. 総括

インクレチン的一种であるGIPはGIPRに結合し、細胞内cAMPを増加させることで生理

作用を発揮するホルモンである。もう一つのインクレチンであるGLP-1と異なり、GIPの作用は脂肪組織へのエネルギー蓄積促進作用であり、肥満に伴い、血液中GIP濃度は増加することが知られている。そのため、GIPR遺伝子欠損及びGIPRアンタゴニストの投与は食事誘導性肥満を抑制することやインスリン抵抗性を改善することが報告されている[3,4,5]。ChREBPの機能を抑制

する因子として、cAMPやAMPが知られている。本研究では、GIP濃度の増加が脂肪細胞内でのcAMP増加を介してChREBPの発現を抑制することによって、肥満の進展の際にGIPシグナルの遮断により脂肪組織でのChREBP発現低下が解除されて、耐糖能やインスリン抵抗性の改善を示唆した。脂肪組織におけるChREBPとGIPの機能に注目した抗肥満法の開発につながると考えている。しかし、本研究では、マウスから単離した脂肪組織から脂肪細胞の分化誘導がうまく出来ず、今後分化した脂肪細胞を用いて、グルコース取り込み実験およびcAMPの測定を行う予定。

参考文献：

1. Yabe D, et al. Curr Diab Rep 2015.
2. Yabe D, et al. Curr Opin Pharmacol 2013.
3. Miyawaki K, et al. Nat Med 2002.
4. Joo E, et al. Diabetes 2017.
5. McClean PL, et al. Am J Physiol Endocrinol Metab 2007.
6. Iizuka K, et al. Endocr J 2013

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 劉 彦言
2. 発表標題 脂肪組織のChREBP活性制御における消化管ホルモンGIPの役割
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会
4. 発表年 2020年

〔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	矢部 大介 (YABE DAISUKE) (60378643)		
研究協力者	飯塚 勝美 (IIZUKA KATSUMI) (40431712)		
研究協力者	堀川 幸男 (HORIKAWA YUKIO) (10323370)		
研究協力者	鷹尾 賢 (TAKAO KEN) (50899614)		

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
---------	---------