

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 21 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21591145

研究課題名（和文）温熱電流同時印加により誘導される新規インスリン作用・インスリン分泌関連分子の同定

研究課題名（英文） Identification of novel molecules associated with insulin action or insulin secretion induced by mild electric current and hyperthermia therapy

研究代表者

近藤 龍也（KONDO TATSUYA）

熊本大学・大学院生命科学研究部・助教

研究者番号：70398204

研究成果の概要（和文）：

温熱と微弱電流刺激（MET）により HSP (heat shock protein) が効率的に増加し、糖尿病モデル動物はヒト 2 型糖尿病の代謝異常・インスリン抵抗性を改善する。本研究では、インスリン感受性臓器および膵  $\beta$  細胞において MET 刺激後の遺伝子発現変化を検討し、種々の候補遺伝子を同定した。特にターゲットとして AMPK, Sirt1, PGC-1 $\alpha$  などが重要な遺伝子である事が判明した。

研究成果の概要（英文）：

Activation of heat shock response with Mild Electrical stimulation with hyperThermia (MET) improves metabolic profiles and insulin resistance in type 2 diabetic mice and humans. In this study, we identified several target genes such as AMPK, Sirt1 or PG-1 $\alpha$ , which are involved in the effect of MET in insulin sensitive tissues.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	800,000	240,000	1,040,000
2010 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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：糖尿病、HSP72、インスリン抵抗性

## 1. 研究開始当初の背景

2 型糖尿病の発症進展には、インスリン抵抗性とインスリン分泌不全の両者が関与

しており、また近年小胞体ストレスの関連も示唆されている。我々は、糖尿病モデルマウスのインスリン抵抗性・インスリン分泌不全

に対して、温熱と微弱電流の同時印加療法 ( Mild Electrical stimulation and hyperThermia: MET) が、そのいずれもを改善することを報告してきた (Morino S et al., *J Pharm Sci.* 2008. Morino S and Kondo T, *PLoS ONE.* 2008)。

## 2. 研究の目的

本研究は、様々な動物モデルを用いて、温熱微弱電流がインスリン感受性臓器と膵β細胞においてどのような遺伝子発現に変化を与え、糖代謝改善に寄与しているのかを検討すること、および新規インスリン作用・インスリン分泌関連分子を同定し、その機能解析を行うことを目的とする。

## 3. 研究の方法

(1)動物モデルとして、①インスリン抵抗性、②インスリン分泌不全、③小胞体ストレス関連マウスを用いる。

(2)肝臓・筋肉・脂肪組織および膵島を ex vivo 単離し、GGA 投与もしくは温熱微弱電流施行して発現変化する遺伝子を網羅的に同定する。

(3)同定した新規遺伝子群の発現増強系・発現抑制系を作成し、細胞レベルでインスリンシグナル増強効果・インスリン分泌増強効果の有無を確認する。

(4)有効な遺伝子を選択して、動物個体に対して遺伝子過剰発現や遺伝子発現抑制を行い、その代謝生理学的表現型を評価して、動物レベルでのインスリンシグナル増強効果・インスリン分泌増強効果を検討する。

## 4. 研究成果

温熱微弱電流刺激により変動する候補遺伝子としては、

- (1) Cytochrome P450,
- (2) SOCS-2/3,
- (3) IRS-2,

- (4) NFAT c-1, c-4, 5,
- (5) Adrenergic receptor β1,
- (6) Sirt1,
- (7) ARNT2,
- (8) carnitine palmitoyltransferase 1a, 2
- (9) methylmalonyl-CoA mutase,
- (10) SOD 1/2
- (11) Janus kinase 3,
- (12) AMPK α2, AMPK β1, AMPK γ3,
- (13) PPAR α, PPAR δ,
- (14) PGC-1α,
- (15) Calcineurin

を同定した。

これらの中でも、AMPK, Sirt1, PGC-1α の関与が重要と考えられる。

AMPK はインスリン非依存的に糖取り込みを改善する。

Sirt1 は長寿関連遺伝子であり、PPARα, FOXO1, HIF-1α, p53, NF-κBなどを制御し、抗炎症作用も発揮する。

PGC-1α は、ミトコンドリアの biogenesis を活性化し、基礎代謝亢進・糖代謝改善に寄与する。

従って、温熱微弱電流 (MET) 効果発現にどの分子が重要かを判断するために、AMPK, Sirt1, PGC-1α 各々の siRNA を in vivo で発現させ、MET 効果の無効化が見られるか否かを検討する予定である。

## 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)

全ての論文に査読あり

- ① Kondo T, Sasaki K, Matsuyama R, Morino-Koga S, Adachi H, Suico MA, Kawashima J, Motoshima H, Furukawa N, Kai H, Araki E. Hyperthermia with Mild

Electrical Stimulation Protects Pancreatic  $\beta$ -Cells From Cell Stresses and Apoptosis. **Diabetes**. 2012 Apr;61(4):838-47.

② Kondo T, Koga S, Matsuyama R, Miyagawa K, Goto R, Kai H, Araki E. Heat shock response regulates insulin sensitivity and glucose homeostasis: pathophysiological impacts and therapeutic potential. **Curr Diabetes Rev**. 2011 Jul;7(4):264-9.

③ Yano S, Morino-Koga S, Kondo T, Suico MA, Koga T, Shimauchi Y, Matsuyama S, Shuto T, Sato T, Araki E, Kai H. Glucose uptake in rat skeletal muscle L6 cells is increased by low-intensity electrical current through the activation of the phosphatidylinositol-3-OH kinase (PI-3K) / Akt pathway. **J Pharmacol Sci**. 2011;115(1):94-8.

④ Adachi H, Kondo T, Ogawa R, Sasaki K, Morino-Koga S, Sakakida M, Kawashima J, Motoshima H, Furukawa N, Tsuruzoe K, Miyamura N, Kai H, Araki E. An Acyclic Polyisoprenoid Derivative, Geranylgeranylacetone Protects Against Visceral Adiposity and Insulin Resistance in High Fat Fed Mice. **Am J Physiol Endocrinol Metab**. 29(5): E764-71. 2010.

⑤ Taniguchi CM, Winnay J, Kondo T, Bronson RT, Guimaraes AR, Alemán JO, Luo J, Stephanopoulos G, Weissleder R, Cantley LC, Kahn CR. The phosphoinositide 3-kinase regulatory subunit p85 $\alpha$  can exert tumor suppressor properties through negative regulation of growth factor signaling. **Cancer Res**. Jul

1;70(13):5305-15. 2010.

⑥ Rotter, VS., Liu, P., Suzuki, R., Kondo, T., Winnay, J., Tran, TT., Asano, T., Smyth, G., Sajjan, MP., Farese, RV., Kahn, CR and Zhao, JJ. Unique Roles of the p110 $\alpha$  Isoform of Phosphoinositide 3-kinase in Hepatic Insulin Signaling and Metabolic Regulation. **Cell Metab**. Mar 3; 11(3):220-30. 2010.

⑦ Kondo, T., Goto, R., Sonoda, K., Yasuda, T., Ono, K., Takaki, Y., Yatsuda, R., Miyamura, N., and Araki, E. Plasma renin activity and aldosterone concentration are not altered by the novel calcium channel antagonist, azelnidipine, in hypertensive patients. **Internal Med**. 49(7): 637-43. 2010.

⑧ Kondo, T., Sasaki, K., Adachi, H., Nakayama, Y., Hatemura, M., Matsuyama, R., Tsuruzoe, K., Furukawa, N., Motoshima, H., Morino, S., Yamashita, Y., Miyamura, N., Kai, H. and Araki, E. Heat Shock Treatment with Mild Electrical Stimulation Safely Reduced Inflammatory Markers in Healthy Male Subjects. **Obesity Res. Clin. Pract**. 4 (2) . e101-e109 . 2010.

⑨ Kondo, T., Matsuyama, R., Ashihara, H., Matsuo, Y., Sasaki, K., Goto, R., Ono, K., Takaki, Y., Honda, Y., Iyama, K., Kawashima, J., Motoshima, H., Tsuruzoe, K., Miyamura, N. and Araki, E. A case of ectopic adrenocorticotrophic hormone-producing pancreatic neuroendocrine tumor with multiple liver metastases. **Endocrine J**. 57(3), 229-236. 2010.

⑩ Kondo, T., Matsuyoshi, A., Matsuyoshi, H., Goto, R., Ono, K., Honda, Y., Iyama, K., Tsuruzoe, K., Miyamura, N. and Araki, E. A case

of primary thyroid squamous cell cancer: transformation from benign tumour associated with chronic thyroiditis? **BMJ**

**Case Reports.**

[doi:10.1136/bcr.10.2008.1137]. 2009.

⑪ Kai, H., Suico, MA., Morino, S., Kondo, T., Oba, M., Noguchi, M., Shuto, T., and Araki, E. A novel combination of mild electrical stimulation and hyperthermia: general concepts and applications. **Int J Hyperthermia.** Dec;25(8):655-60. 2009.

[学会発表] (計 18 件)

① Kondo T., Matsuyama R, Miyagawa K, Goto R, Araki E.: Activation of HSR Improves Metabolic Profiles in Diabetic Mice and Humans. Keystone Symposia 2012/01/27~2012/02/01, Santa Fe, USA.

② 近藤龍也, 荒木栄一: 熱ショック応答経路活性化による糖代謝異常関連疾患へのアプローチ  
第 15 回日本病態栄養学会年次学術集会、2012/01/14~2012/01/15、京都、国立京都国際会館

③ Kondo T., Matsuyama R, Miyagawa K, Goto R, Kawashima J, Motoshima H, Furukawa N, Kai H, Araki E.: Activation of Heat Shock Response Improves Metabolic Profiles in Male Subjects with Metabolic Syndrome and Type 2 Diabetes. 16th Japan-Korea Symposium on Diabetes Mellitus. 2011/10/21~2011/10/22, Tokyo, Hilton Tokyo Bay Hotel, Japan.

④ 近藤龍也, 松山利奈、宮川克俊、後藤理英子、本島寛之、河島淳司、古川昇、水流添覚、荒木栄一、シンポジウム「慢性炎症と糖代謝異常」熱ショック応答経路とインスリン抵抗性、第 54 回日本糖尿病学会学術総会

2011/05/19~2011/05/21、札幌、ロイトン札幌

⑤ 後藤理英子、河島淳司、近藤龍也、水流添覚、下田誠也、宮村信博、荒木栄一「原発性アルドステロン症自験 44 例における耐糖能異常の頻度と特徴」第 20 回臨床内分泌 Update、2011/01/28~2011/01/29 札幌、札幌コンベンションセンター

⑥ 近藤龍也、松山利奈、後藤理英子、宮川克俊、河島淳司、本島寛之、西川武志、荒木栄一、「熱ショック応答経路(HSR)活性化によるメタボリックシンドローム治療成績」第 48 回日本糖尿病学会九州地方会 2010/10/29~2010/10/30 別府、ビーコンプラザ

⑦ 近藤龍也、松山利奈、後藤理英子、宮川克俊、河島淳司、本島寛之、西川武志、荒木栄一、ミニシンポジウム「体質改善を主眼においた最新の生活習慣病治療法開発」熱ショック応答経路(HSR)活性化による生活習慣病治療、第 60 回日本体質医学会総会 2010/10/16~2010/10/17 熊本、熊本パレア

⑧ 近藤龍也、松山利奈、後藤理英子、宮川克俊、河島淳司、本島寛之、西川武志、荒木栄一、「メタボリックシンドロームに対する熱ショック応答経路(HSR)活性化療法の臨床応用」、第 31 回日本肥満学会 2010/10/01~2010/10/02 群馬、前橋テルサ

⑨ Kondo T., Matsuyama R, Sasaki K, Morino-Koga S, Suico MA, Kawashima J, Motoshima H, Furukawa N, Tsuruzoe K, Miyamura N, Kai H, Araki E. Induction of HSP72, a Potential Novel Therapeutic Approach For Metabolic Syndrome and Type 2 Diabetes. 46<sup>th</sup> EASD Annual Meeting 20~24 Sept. 2010/09/20~2010/09/24 Stockholm, Sweden.

⑩ 近藤龍也、佐々木一成、松山利奈、水流添覚、古川昇、本島寛之、河島淳司、古賀沙緒

里、甲斐広文、荒木栄一、「メタボリックシンドロームに対する温熱・電流同時印加療法 (MET) の内臓脂肪減少・代謝改善・慢性炎症マーカー低下効果」、第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会 2010/05/25~2010/05/27

岡山、岡山コンベンションセンター

⑪近藤龍也、佐々木一成、松山利奈、水流添覚、本島寛、古賀沙緒里、甲斐広文、荒木栄一、「糖代謝改善をもたらす分子シャペロン Hsp72 制御療法の臨床応用を目指して

」第 107 回日本内科学会総会 2010/04/10~2010/04/11 東京、東京国際フォーラム

⑫近藤龍也、足立博紀、小川れい、佐々木一成、古川昇、本島寛之、河島淳司、水流添覚、高野優、榊田典治、荒木栄一、「小胞体ストレス関連分子 CHOP の発現制御によるインスリン抵抗性改善作用の検証

」第 47 回日本糖尿病学会九州地方会 2009/10/23~2009/10/24 福岡、リーガロイヤルホテル小倉

⑬Kondo T, Adachi H, Ogawa R, Sasaki K, Tsuruzoe K, Furukawa N, Motoshima H, Sakakida M, Araki E. Knockdown of CHOP, an Inducer of Cellular Apoptosis upon Excessive Endoplasmic Reticulum Stress, in Liver Ameliorates Insulin Resistance and Glucose Homeostasis in Mice Model of Type 2 Diabetes. 45th EASD Annual Meeting, 2009/09/29~2009/10/02, Vienna, Austria

⑭近藤龍也、佐々木一成、足立博紀、森野沙緒里、甲斐広文、荒木栄一、「分子シャペロン Hsp72 の発現制御による肥満糖尿病への治療応用」第 59 回日本体質医学会総会 2009/07/25~2009/07/26 東京、学士会館

⑮Kondo T, Adachi H, Ogawa R, Sasaki K, Tsuruzoe K, Furukawa N, Motoshima H, Sakakida M, Araki E. 69th American Diabetes

Association Scientific Sessions,

2009/06/05~

2009/06/09 New Orleans, USA

⑯近藤龍也、足立博紀、小川れい、佐々木一成、古川昇、本島寛之、河島淳司、水流添覚、高野優、榊田典治、荒木栄一、「アポトーシス誘導転写因子 CHOP の発現制御によるインスリン抵抗性改善効果の検証」

第 52 回日本糖尿病学会年次学術集会 2009/05/21~2009/05/24 大阪、大阪国際会議場

⑰近藤龍也、佐々木一成、足立博紀、森野沙緒里、甲斐広文、荒木栄一、公募シンポジウム「インスリンシグナルの破綻と糖尿病」HSP72 誘導によるインスリン抵抗性改善効果とその機序解明、第 82 回日本内分泌学会年次学術総会 2009/04/23~2009/04/25 群馬、前橋商工会議所

⑱荒木栄一、近藤龍也、森野沙緒里、甲斐広文、「温熱電流同時印加療法の開発とメタボリックシンドローム治療への応用」第 46 回臨床分子医学会 2009/04/12~2009/04/13 東京、東京国際フォーラム

[図書] (計 8 件)

①近藤龍也：日本体質医学会編、日本体質医学会雑誌、「熱ショック応答経路 (HSR) 活性化による生活習慣病治療」2011 年 73(1), Page 63-66.

②荒木栄一、近藤龍也、佐々木一成、古賀(森野)沙緒里、甲斐広文：日本体質医学会編、日本体質医学会雑誌、「温熱と電流同時印加療法によるインスリン抵抗性の改善作用について」2010 年 72(1): Page 13-17.

③近藤龍也、古賀佐緒里、甲斐広文、荒木栄一。メディカルレビュー社、Diabetes Frontier. 「熱ストレスとインスリン抵抗性。」2010 年(21), Page 447-450.

④近藤龍也，佐々木一成，古賀(森野)沙緒里，松山利奈，甲斐広文，荒木栄一．北隆館・ニューサイエンス社、BIO Clinica. 「温熱電流同時印加療法. 」2010年、(25), Page 78-83.

⑤近藤龍也，佐々木一成，松山利奈，荒木栄一．メジカルビュー社【炎症と動脈硬化】肥満、インスリン抵抗性と炎症. 動脈硬化予防、2009年(1347-7056)8巻3号 Page 48-53.

⑥甲斐広文，森野沙緒里，近藤龍也，荒木栄一．メディカルレビュー社、アンチ・エイジング医学、【代替医療を科学する】「温熱療法と微弱パルス電流療法」2009年、(1880-1579)5巻3号 Page 348-354.

⑦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. 【肥満治療の最前線】内臓脂肪に対する温熱微弱電流併用療法の効果. 2009年、(0915-6593)20巻3号，Page 324-329.

⑧近藤龍也．科学評論社、内分泌・糖尿病科【糖尿病網膜症の成因と治療 最近の知見】糖尿病網膜症とインスリンシグナル内分泌・糖尿病科、2009年(1341-3724)28巻3号 Page 219-224.

[その他]

ホームページ等

<http://www2.kuh.kumamoto-u.ac.jp/met/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

近藤 龍也 (KONDO TATSUYA)

熊本大学・大学院生命科学研究部・助教  
研究者番号：70398204

### (2) 研究分担者

荒木 栄一 (EIICHI ARAKI)

熊本大学・大学院生命科学研究部・教授  
研究者番号：10253733