

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25年6月3日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22390183

研究課題名（和文）栄養蓄積因子 GIP と代謝疾患に関する研究

研究課題名（英文）Research on the association of GIP and metabolic diseases

研究代表者

山田 祐一郎（YAMADA YUICHIRO）

秋田大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：60283610

研究成果の概要（和文）：

消化管から分泌される GIP は、食事量に応じたインスリンの追加分泌を促進する消化管因子であるが、GIP 受容体は膵β細胞以外にも生体各所で発現し、様々な生理活性を發揮する。脂肪組織においては、脂肪細胞にもならず間質血管細胞群（SVF）にも発現し、局所における細胞間連携に関与している。もう一つのインクレチンである GLP-1 とは異なる役割を有し、既存の糖尿病治療薬であるαグルコシダーゼ阻害薬もインクレチン分泌調節に関与している。

研究成果の概要（英文）：

GIP is one of the gut hormones, which stimulate insulin secretion from pancreatic β-cells after meal ingestion as an incretin. GIP receptor is expressed in various tissues, in addition to pancreatic β-cells, and GIP is expected to play a several physiological role in vivo. We have shown that GIP receptor is expressed in stromal vascular fraction cells, in addition to adipocytes and that GIP regulates function of adipose tissues. GLP-1, the other incretin, has its proper function and α-glucosidase inhibitor can modulate the function of incretin through modulating the carbohydrate absorption from the gut.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	5,000,000	1,500,000	6,500,000
2011年度	4,500,000	1,350,000	5,850,000
2012年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
総計	13,700,000	4,110,000	17,810,000

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・栄養学・生理活性・インクレチン

1. 研究開始当初の背景

生体各所の細胞ではそれぞれ細胞固有の代謝システムを有しており、細胞内代謝に密接に関連してその機能を發揮する。一方、

個々の細胞・組織は、生体としての代謝の恒常性を維持するように緊密に連携している。消化管から分泌されるインクレチンは、外界の「食事」というシグナルを受けて、生体の

代謝調節のために全身に発信されるシグナルである。

食後の糖代謝の恒常性の維持には、食事量に応じた適切なインスリン追加分泌が必須である。上部小腸の K 細胞から分泌される GIP (gastric inhibitory polypeptide) と下部小腸の L 細胞から分泌される GLP-1 (glucagon-like peptide-1) の 2 つの消化管ホルモンが生理的かつ相加的にインスリン追加分泌に関与する。これらの成果は、インクレチン薬である GLP-1 受容体作動薬 (GLP-1 シグナルの薬理作用を活性化) や DPP-IV (dipeptidyl peptidase IV) 阻害薬 (GIP と GLP-1 シグナルの生理作用を活性化) の臨床応用に繋がっている。

食事量に応じて脂肪細胞を活性化することは、飢餓に曝された生物が摂取した食事を有効利用する上で必要である。申請者は、GIP 受容体は脂肪細胞に発現し、脂肪細胞を GIP で刺激するとグルコースなどの取り込みが増加するが、肥満を誘発する環境 (高脂肪食・過食・加齢など) で GIP 受容体欠損マウスを飼育しても肥満が軽減することを示し、生理的な濃度の GIP が脂肪蓄積に関与することを明らかにしてきた。一方、GLP-1 には薬理的な食欲抑制作用があり、高濃度の GLP-1 は体重減少に繋がることが報告されているが、このようなインクレチンの膵作用・膵外作用の解明がインクレチン薬の薬効の違いの理解に繋がっている。さらに、カルシウムを海水などから摂取する魚類と異なり、ヒトを含む多くの哺乳類はカルシウムを食物から摂取するが、GIP は骨芽細胞を食後に間欠的に活性化することで摂取したカルシウムを骨に沈着させることを示した。

2. 研究の目的

このような申請者の成果から、GIP は摂取した栄養素を蓄積することがその生理的な役割であることを提唱している。糖・脂質の過剰摂取は肥満となり、動脈硬化性疾患の発症要因である。一方、手術後などにおける摂取不足は低栄養となり、QOL の低下・生命予後の不良となる。また、カルシウムは、飽食の現代においても不足の栄養素であり、骨粗鬆症を発症する。したがって、GIP 作用を統合的に理解することは、栄養と関連深い代謝疾患の新たな治療法の開発に繋がる。

3. 研究の方法

研究代表者が樹立した GIP 受容体欠損マウス (PNAS 1999)、あるいはもう一つのインクレチンである GLP-1 の受容体欠損マウス (カナダ・トロント大学 Drucker 博士から供与) を用いる。高脂肪食と通常食で飼育した群の比較、インスリン分泌が低下した Akita マウス (自然発症インスリン遺伝子変異モデル)

あるいは肥満・インスリン抵抗性の ob/ob マウス (レプチン遺伝子の変異に伴い過食を呈するモデル) と交配した群との比較を行い、脂肪組織・骨組織・膵内分泌細胞など代謝に関連する組織の検索を行うとともに、糖尿病の合併症に関連する腎組織の評価を行う。脂肪組織に関しては、常法に基づき脂肪細胞ならびに SVF (stromal vascular fraction) 細胞を単離し、GIP 受容体の発現を検索するとともに、骨髄移植を行うことによって、血液細胞成分と脂肪細胞成分における GIP 受容体発現を変えた時の肥満・インスリン抵抗性などを検索する。腎に関しては、組織を評価するとともに、尿アルブミン等についても評価する。

あわせて活性型 GIP と非活性型 GIP を同時に測定する LC/MS/MS 測定系を確立する。

4. 研究成果

GIP 受容体は脂肪組織に発現している。また、3T3-L1 細胞を分化させると GIP 受容体の発現が出現することから、脂肪細胞に発現していると想定されたが、SVF 細胞については不明であった。そこで、肥満したマウスの脂肪組織から、脂肪細胞と SVF を分画すると、GIP 受容体が SVF にも強く発現していることが明らかとなった。GIP 受容体欠損マウスならびに骨髄移植モデルなどを用いて、肥満・インスリン抵抗性における脂肪細胞あるいは血液細胞の意義について、検討している。

GIP 受容体は、膵β細胞・脂肪組織・骨芽細胞以外にも多くの組織に発現していることを RT-PCR 法で見出ししている。とくに、発現が多かった組織の一つの精巣がある。そこで、精巣における GIP 受容体の発現を詳細に発現していた。GIP 受容体欠損マウスの精子と野生型マウスの卵子を用いた人工授精を行うと、著明な受精能の低下を認めた。このように、GIP は脂肪蓄積のみならず、生殖にも関与していることが明らかとなった。

薬理的な濃度の GLP-1 を投与すると、糖尿病性腎症の組織病変の改善、あるいは尿アルブミン量の減少が示されている。このような GLP-1 の役割が生理的な濃度でも発揮されるかを検討するために、Akita マウスと GLP-1 受容体欠損マウスを交配した。Akita マウスは背景に BL/6 を用いた。これは腎症に抵抗性であるが、GLP-1 受容体を欠損させることで、腎症組織病変の悪化、尿アルブミン量の増加等を認め、内因性 GLP-1 が腎症に対して保護的に働いていることを明らかにした。このような作用は GIP にはない。

このように GIP と GLP-1 の生体における役割は異なる。したがって、GLP-1 のみならず GIP においても、活性型 GIP (1-42) や DPP IV によって分解された不活性型 GIP (3-42) を測定することが重要であると考えられた。そこ

で、LC/MS/MS/MSを用いた測定系を樹立した。本測定系は、採血したサンプルに internal standard を入れ、endoproteinase Asp-N で切断後、解析することで、特異的な測定系を確立した。本測定系を用いることで、DPP IV 阻害薬、あるいは α グルコシダーゼ阻害薬を投与した臨床研究において、GIP を測定することで、2つのクラスの薬剤は、いずれも食後の高血糖を抑制するが、活性型 GIP に関して前者は増加、後者は減少と全く異なり、これが体重の変化と関連することがわかってきた。

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7件)

(1) Miyachi A, Murase T, Yamada Y, Osonoi T, Harada KI: Quantitative Analytical Method for Determining the Levels of Gastric Inhibitory Polypeptides GIP and GIP in Human Plasma Using LC-MS/MS/MS. J Proteome Res. 2013. (in press)

(2) Fujita H, Fujishima H, Takahashi K, Sato T, Shimizu T, Morii T, Shimizu T, Shirasawa T, Qi Z, Breyer MD, Harris RC, Yamada Y, Takahashi T: SOD1, but not SOD3, deficiency accelerates diabetic renal injury in C57BL/6-Ins2(Akita) diabetic mice. Metabolism 61(12):1714-1724. 2012.

(3) Narita T, Yokoyama H, Yamashita R, Sato T, Hosoba M, Morii T, Fujita H, Tsukiyama K, Yamada Y: Comparisons of the effects of 12-week administration of miglitol and voglibose on the responses of plasma incretins after a mixed meal in Japanese type 2 diabetic patients. Diabetes Obes Metab 14(3):283-287. 2012.

(4) Fujita H, Fujishima H, Morii T, Sakamoto T, Komatsu K, Hosoba M, Narita T, Takahashi K, Takahashi T, Yamada Y: Modulation of renal superoxide dismutase by telmisartan therapy in C57BL/6-Ins2(Akita) diabetic mice. Hypertens Res 35(2):213-220. 2012.

(5) Fujita H, Sakamoto T, Komatsu K, Fujishima H, Morii T, Narita T, Takahashi T, Yamada Y: Reduction of circulating superoxide dismutase activity in type 2 diabetic patients with microalbuminuria and its modulation by telmisartan therapy. Hypertens Res 34(12):1302-1308. 2011.

(6) Narita T, Goto T, Suganuma Y, Hosoba M, Morii T, Sato T, Fujita H, Miura T, Shimotomai T, Yamada Y, Kakei M: Efficacy and safety of patient-directed titration of once-daily pre-dinner premixed biphasic insulin aspart 70/30 injection in Japanese type 2 diabetic patients with oral antidiabetic drug failure: STEP-AKITA study. J Diabetes Invest 2(1):63-70. 2011.

(7) Takahashi I, Yamada Y, Kadowaki H, Horikoshi M, Kadowaki T, Narita T, Tsuchida S, Noguchi A, Koizumi A, Takahashi T: Phenotypic variety of insulin resistance in a family with a novel mutation of the insulin receptor gene. Endocr J 57(6):509-516. 2010.

〔学会発表〕(計4件)

(1) Yamada Y: Extrapaneatic effects of GIP and GLP-1 Beta Cell Workshop 2013 Kyoto 2013年4月 京都府京都市

(2) 山田祐一郎: インクレチンの糖代謝 第86回日本内分泌学会学術集会 2013年4月 宮城県仙台市

(3) 山田祐一郎: インクレチンの生理作用 第16回日本病態プロテアーゼ学会 2011年8月 大阪府豊中市

(4) 山田祐一郎: インクレチンから見た糖代謝・骨代謝の機能連関 第13回日本骨粗鬆学会 2011年11月 兵庫県神戸市

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

www.med.akita-u.ac.jp/~rounen/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山田 祐一郎 (YAMADA YUICHIRO)

秋田大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号: 60283610

(2) 研究分担者

藤田 浩樹 (FUJITA HIROKI)

秋田大学・医学部・講師

研究者番号: 30333933

月山 克史 (TSUKIYAMA KATUSHI)

秋田大学・医学部・准教授
研究者番号：10359797

(3)連携研究者
なし