

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350897

研究課題名(和文) 膵細胞特異的TNF過剰発現マウスを用いた1型糖尿病発症メカニズムの解明

研究課題名(英文) The approach for pathogenic mechanism of Type 1 diabetes using transgenic mice expressing TNFalpha selectively in pancreatic beta cells

研究代表者

加隈 哲也 (Kakuma, Tetsuya)

大分大学・保健管理センター・准教授

研究者番号：80343359

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：膵細胞特異的TNF過剰発現マウスは著明なinsulinitisを呈しているが、インスリン分泌は比較的良好に保たれており、過栄養負荷に対しても糖代謝は良好であった。インスリン産生細胞が形態的、機能的障害に陥ったとしても、そこからparacrineしたTNFにより、グルカゴンやソマトスタチンの機能的障害が同時に存在するため、相対的にインスリン作用が優位となり、糖尿病抵抗性になると考えられた。膵細胞特異的TNF過剰発現マウスは肥満抵抗性、脂肪肝抵抗性を示したことから、自己免疫性1型糖尿病の発症メカニズムの解明に向けたモデルと言うより、むしろ過栄養性脂肪肝抑制モデルとしての価値が注目された。

研究成果の概要(英文)：Transgenic mice expressing TNF selectively in pancreatic cells developed a severe insulinitis, however, apparently resulting in positive glucose metabolism with relatively favorable insulin secretion against over-nutrition. Blood TNF levels had no induction in transgenic mice because the line with low copy number of TNF transgene was used in this study. Even though insulin-producing cells were destroyed morphologically and functionally, the effect of insulin was relatively dominant because of the concomitant severe impairments in glucagon and somatostatin by paracrine TNF. This may provide an explanation for diabetes resistance in TNF transgenic mice. The experiments of over-nutrition such as high-fat diet and high-sucrose one showed that these mice were also characterized by obesity resistance and fatty liver resistance. TNF transgenic mice in the present study are considered of value for the model of fatty liver resistance against over-nutrition.

研究分野：内分泌代謝

キーワード：膵細胞特異的TNF過剰発現マウス 糖尿病抵抗性 肥満抵抗性 脂肪肝抵抗性

1. 研究開始当初の背景

膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスは、細胞障害作用を有する炎症性サイトカインの TNFαをラットインスリンプロモーターの元で膵β細胞特異的に過剰発現させたマウスである(Higuchi Y et al. JEM. 1992)。TNFαトランスジーンが 1-2 コピーのマウスは、血中 TNFαは検出レベル以下であり、血流を介した多臓器への直接障害をもたらすことなく、膵ランゲルハンス島障害のみが観察できる。本マウスは永続的な insulinitis を呈するが、2 年の飼育でも糖尿病の自然発症は観察されなかった。しかも、驚くべきことに、種々の細胞障害をきたす炎症性サイトカインやストレプトゾトシンの投与によっても糖尿病の発症には至らなかった(Higuchi Y et al. JEM. 1992)。同時期に他研究室でも低コピーの膵 β 細胞特異的 TNFα過剰発現マウスが樹立されているが(Picarella DE et al. J Immunol. 1993)、いずれもリンパ球浸潤に伴う insulinitis は自己免疫性 1 型糖尿病の必要条件であっても十分条件でないことを報告している。このように膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスが、なぜ糖尿病を発症しないのかに関しては、十分に解明されていない。

我々は、preliminary ではあるが、本マウスに 60%高脂肪食を 10 週間投与したところ、insulinitis のさらなる増悪を認めるものの、血糖値の有意な上昇を認めず、体重増加は軽度であり、野生型マウスと比較して、明らかな糖尿病抵抗性、肥満抵抗性を示した。また本マウスのラ氏島の免疫染色ではインスリンの残存が認められるが、グルカゴンの発現は極めて障害されていた。つまりグルカゴンの低下が本マウスの糖尿病抵抗性、肥満抵抗性の一因となっている可能性が考えられる。

インスリン抵抗性を惹起し、耐糖能障害をきたす悪玉サイトカインの代表とも言える TNFαを、膵β細胞特異的に過剰発現させたモデルが、著明な insulinitis を呈するにもかかわらず、なぜ耐糖能を良好に保ち、肥満に抵抗性を示すのか？。このモデルの表現型は内分泌代謝領域の常識からすると極めて特異的なものと判断される。血中 TNFαは感度以下であることが確かめられているので、膵ランゲルハンス島局所での変化が、これらの表現型を規定することになる。膵 β 細胞特異的 TNFα過剰発現マウスの解析により、膵 β 細胞の機能障害と糖尿病ならびに肥満症の発症について、ならびに insulinitis から糖尿病発症を防御する機構に関わる新規知見が得られる可能性があり、本研究を実施したいと考えた。

2. 研究の目的

1 型糖尿病は、膵ランゲルハンス島の炎症に伴うインスリン分泌の枯渇が疾患の本体であるが、insulinitis とインスリン分泌障害との直接の因果関係は不明な点が多い。明らかな insulinitis を呈するが糖尿病に抵抗性を示す膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスを用いて、

自己免疫性 1 型糖尿病の発症メカニズムを検証することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスの基礎データの収集

①当大学のアニマルセンターで出産した 9-11 週齢雄の膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスならびに野生型 C57BL6J マウス、それぞれ 30 匹を個別ケージで 1 週間飼育。その後体重順にならべて、体重の上から 7 番目から 18 番目までの中間の 12 匹ずつを使用して、本マウスの基礎データ(体重、摂食量、飲水量、摂食状態に応じた血糖変動)を収集した。

②同様に 10 週齢雄の膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスならびに野生型マウス、それぞれ 16 匹を 2 群に分けて、IPGTT(腹腔内ブドウ糖負荷試験)と IPITT(腹腔内インスリン負荷試験)を実施し、糖代謝について検討した。

③また 8 週齢雄の膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウス 8 匹、野生型マウス 5 匹を長期飼育し、体重と随時血糖を比較した。なお本研究における血糖値はいずれも尾静脈採血で実施している。

(2) 同一個体での評価から群間評価へ

①11 週齢雄の膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウス 23 匹ならびに野生型マウス 24 匹を随時群、絶食群、再摂食群の 3 群に分けて、血糖値を評価した。また無麻酔下で断頭後に頸動脈から血液を回収し、インスリンとグルカゴンの測定を実施した。

(3) 膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスの摂食ならびに飲水関連神経ペプチドの解析

①13-14 週齢雄の膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスならびに野生型マウスのそれぞれ 14 匹を随時群 4 匹、絶食群 5 匹、再摂食群 5 匹の 3 群に分けて、全ての群の断頭処理が同日の 11-13 時にできるように、それぞれの負荷を実施した。摂食促進系ペプチドとして MCH、NPY、AgRP、また摂食抑制系ペプチドとして CRH、POMC、CART、さらに飲水調節ペプチドとして AVP の発現を in-situ hybridization により比較した。

(4) 膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスの膵由来糖代謝調節ホルモンの発現と病理学的解析

①8-10 週齢雄の膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスならびに野生型マウスのそれぞれ 16 匹を随時群 8 匹、絶食群 8 匹の 2 群に分けて、麻酔下に下大静脈から血液を回収し、インスリン、グルカゴン、TNFαの測定を実施した。②またそれぞれのマウスより膵臓を回収し、インスリン、グルカゴン、ソマトスタチン、TNFαの免疫染色を実施した。

(5) 膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスに食事負荷をした際の検討

①11-12 週齢雄の膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスならびに野生型マウスのそれぞれ 24 匹を 8 匹ずつ 3 群に分けて、普通食、60%高脂肪食、30%高シヨ糖食を 8 週間投与した。

その際の体重、摂食量、飲水量、随時血糖、副腎丸周囲脂肪量、肝臓重量を測定、(麻酔下に下大静脈から血液を回収し)血清インスリン、グルカゴン、TNF α の測定を実施した。

②さらにそれぞれのマウスより膵臓を回収し、インスリン、グルカゴン、ソマトスタチンの免疫染色を、また肝臓では oil red O 染色を実施した。

4. 研究成果

(1) 膵 β 細胞特異的 TNF α 過剰発現マウスの糖代謝における基礎データの収集

①膵 β 細胞特異的 TNF α 過剰発現マウスは野生型マウスと比較して、1日あたりの摂食量には差がなかったが、体重が有意に低かった (25.7g vs 26.5g, $P<0.05$)。また1日あたりの飲水量が明らかに低く (4.29ml vs 5.54ml, $P<0.001$)、体重補正しても有意に低かった。随時血糖値 (136.4mg/dl vs 190.5mg/dl, $P<0.0001$)、24時間絶食時血糖値 (81.5mg/dl vs 118.3mg/dl, $P<0.0005$)、5時間再摂食時の血糖値 (133.7mg/dl vs 204.1mg/dl, $P<0.0001$) は全て低値を示した。

②IPGTT (腹腔内ブドウ糖負荷試験) : preliminary にブドウ糖液 2g/kg で実施したところ、野生型マウスにおいて血糖測定感度以上が続出したため、1g/kg で実施した。

表 1

IPGTT(1g/kg)	前値	20分値	40分値	60分値	120分値
TNF α Tg	99.6	197.9	178.9	149.5	118.3
C57BL6J	125.4	324	325.1	257.4	168.4

血糖変動カーブは、膵 β 細胞特異的 TNF α 過剰発現マウスでは野生型マウスより有意に低く、また負荷後 120 分値は前値と有意差がないところまで低下しているが、野生型マウスでは依然、有意に高値 ($P<0.05$) であった (表 1)。

IPITT (腹腔内インスリン負荷試験) :

表 2

IPITT(0.5U/kg)	前値	20分値	40分値	60分値	120分値
TNF α Tg	168.9	131.4	86.5	76.1	114.9
C57BL6J	205.1	219	193.8	196.4	185.8

0.5U/kg の投与では、野生型マウスには血糖の有意な低下は観察されなかったが、膵 β 細胞特異的 TNF α 過剰発現マウスでは有意な血糖低下を認めた。また血糖変動カーブは野生型マウスより有意に低かった (表 2)。

表 3

IPITT(1.5U/kg)	前値	20分値	40分値	60分値	120分値
TNF α Tg	194.4	128.8	84.1	50	75.8
C57BL6J	256.5	176.6	133	103.9	141.4

再度 1.5U/kg の投与で同実験を実施した。今回は野生型マウスでも有意な血糖の低下が観察された。同条件下で、膵 β 細胞特異的 TNF α 過剰発現マウスの負荷後 120 分血糖値は 75.8mg/dl と低血糖が遷延していた (表 3)。

③野生型マウスの体重は、生後 16 週くらいから 30g を超え、生後 54 週には 44g まで増加した。一方で、膵 β 細胞特異的 TNF α 過剰発現マウスの体重は、生後 54 週でも 30g 未満であり、野生型マウスに比べ常時低値であった。野生型マウスの随時血糖は、生後 16 週くらいから常に 200mg/dl を超えるが、膵 β 細胞特異的 TNF α 過剰発現マウスでは 200mg/dl 未満を推移し、血糖は有意に低かった。一方で、40 週くらいから野生型の血糖が 200mg/dl 未満となり、46 週からは有意差がなくなってきたが、全経過を通じて野生型マウスより低かった。

まとめ：膵 β 細胞特異的 TNF α 過剰発現マウスは摂食量には有意な差はなかったが、体重がやや低めで、(体重補正しても)飲水量は野生型の 80%程度と有意に低いことが判明した。また絶食、再摂食負荷、ならびに IPGTT、IPITT において、明らかに糖代謝は良好であり、1年間の長期飼育においても随時血糖は 200mg/dl 未満を推移した。なお生後 1 年目の体重は、野生型マウスの 65%程度であり、膵 β 細胞特異的 TNF α 過剰発現マウスは糖尿病抵抗性、肥満抵抗性であり、同時に飲水量が低下したモデルであることが判明した。

(2) 同一個体での評価から群間評価へ

①膵 β 細胞特異的 TNF α 過剰発現マウスは野生型マウスと比較して、随時血糖値 (156.6mg/dl vs 234mg/dl, $P<0.005$)、24時間絶食時血糖値 (80.1mg/dl vs 129.8mg/dl, $P<0.0005$)、5時間再摂食時の血糖値 (149.5mg/dl vs 196.9mg/dl, $P<0.05$) と全て低値を示し、(1) ①で評価した同一個体の血糖変動を、個別個体の群間でもほぼ完全に再現した。断頭により回収した血漿インスリン値は、それぞれ随時 (0.87ng/ml vs 0.33ng/ml, $P<0.01$)、24時間絶食時 (0.33 ng/ml vs 0.1 ng/ml, $P<0.005$)、5時間再摂食時 (1.71 ng/ml vs 1.32 ng/ml, $P=0.51$) と全て高値を示した。一方で、グルカゴン値は既報と比べ桁違いに高く、また個体間のブレが激しかったので、この検体での評価は断念した。

まとめ：摂食ならびに飲水関連神経ペプチドの解析を同一個体で実施することは不可能である。また各種臓器の評価、さらに十分な血液を回収するためには、随時群、絶食群、再摂食群を作成し、群として評価することが必要となる。従って、そのクオリティーが同一個体での評価と同レベルを担保できるか、また神経ペプチドの評価は無麻酔下で断頭による脳の回収が望まれるが、その際の頸動脈採血で問題ないかを検証するために実施した。本研究で、同一個体の血糖変動を個別個体の群間でもほぼ完全に再現できることが判明した。膵 β 細胞特異的 TNF α 過剰発現マウスは野生型マウスと比較して、インスリン値は常時高かったが、野生型マウスと同様に摂食状態に応答することがわかった。また絶食時のインスリン値は、野生型の随時のインスリン値とは

ほぼ同等であった。一方で、野生型マウスでは、絶食時には随時の 1/3 に低下、再摂食時には随時の 4 倍、絶食時からすると 13 倍の上昇となっている。膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスでは、絶食時の変化は同等であったが、再摂食時には随時の 2 倍、絶食時からすると 5 倍の上昇にとどまり、食事による変動は野生型マウスに比べ小さかった。この結果は、膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスの糖代謝が良好なのは、インスリンが常時高値である可能性を示唆している。一方で、グルカゴンについては実測値が既報とあまりにかけ離れており、断頭採血による検体では不適切と判断した。従って、通常の麻酔下で下大静脈採血により血液を回収することにした。

(3) 膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスの摂食ならびに飲水関連神経ペプチドの解析

①膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスならびに野生型マウスの生活環を再度確認し(膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスの飲水量は野生型の 80%であり、これまでのモデルと全く同じ)、24 時間絶食、4 時間再摂食負荷を実施した。LHA の MCH、PVN の CRH の発現は両マウスにおいて有意な差はなく、食事による変動も観察されなかった。ARC の POMC と CART の発現も有意な差はなかったが、それぞれ絶食で有意に低下、再摂食で有意に上昇していた。また ARC の NPY と AgRP の発現も有意な差はなかったが、絶食で有意に上昇、再摂食で有意に低下していた。一方で、SON と PVN での AVP の発現は膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスで有意に上昇していた。一方で、食事による変動は観察されなかった。

まとめ：摂食ならびに飲水関連神経ペプチドの解析は、麻酔の影響を避けるため、断頭処理で回収し、さらに概日リズムでの変化を一定にするため、脳回収の処理を 11-13 時に実施した。摂食促進系また摂食抑制系ペプチドの発現は両マウスの間に差は見られず、いずれのマウスも摂食状態に応じて reasonable な変化を示していた。一方で、AVP は膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスで有意に上昇しており、食事による変化は観察されなかった。両マウスの間で摂食量には大きな差があったことを考えると摂食調節ペプチドの変化は妥当と考えられる。その中で、膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスでは AVP は明らかに高値を示しており、当マウスの飲水量が少ない原因である可能性が示唆された。

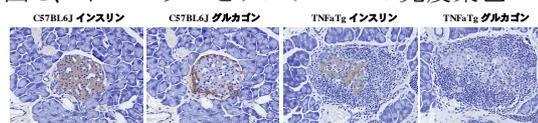
(4) 膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスの膵由来糖代謝調節ホルモンの発現と病理学的解析

①麻酔下で下大静脈から採取した血液を使用し、インスリン、グルカゴン、TNFαの測定を実施した。膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスは野生型マウスと比較して、インスリン値は有意に高く (5.66ng/ml vs 1.53ng/ml, P<0.01)、

絶食では低下し (1.25ng/ml vs 0.19ng/ml, P<0.01)、野生型マウスと同様に摂食状態に応じた反応が見られた。また絶食時のインスリン値は、上記の通り、野生型の随時のインスリン値とほぼ同等であった。なお食事状態に伴う変化は野生型マウスの方が劇的であり、食事による変動は野生型マウスより小さかった。この結果は断頭採血による動脈血でのデータと同調しており、膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスにおける摂食におけるインスリン分泌動態が再確認された。一方でグルカゴン実測値は既報のレベルとなり、個体間の差も少なく、この条件下での評価は妥当と考えられた。その中で、グルカゴン値は両マウスに有意な差を認めず (122.8pg/ml vs 102.7pg/ml)、摂食状態による変動も認めなかった (102.6pg/ml vs 103.7pg/ml)。また膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスの随時 TNFαは 5.69pg/ml、野生型マウスでは 5.84pg/ml と差がなく、いずれも絶食による変化を認めなかった。この測定値は検出感度下限であるため、正確な評価は難しいが、少なくとも膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスの血中 TNFαは上昇しておらず、全身性の血中 TNFα高値モデルではないことが確認された。

②膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスの膵ランゲルハンス島は細胞浸潤が強く、肥大化していた。野生型ではインスリンは膵ランゲルハンス島中央部に集中して染色され、その 90%以上を占めるが、膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスでは膵ランゲルハンス島の 50%以下に散在して観察された(図 1)。グルカゴンは野生型では膵ランゲルハンス島辺縁部にはっきりと染色されていたが、膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスでは辺縁部や中央部にわずかに染色されているか、ほとんど同定されないものもあり、明らかに減少していた(図 1)。ソマトスタチンは野生型では膵ランゲルハンス島辺縁部に散在して染色されるが、膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスではほとんど同定されなかった。TNFαは膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスではインスリンと同じ領域に同定され、インスリン陽性細胞と一致した発現が観察されたが、野生型では膵ランゲルハンス島全体に若干薄く染まっているように見えた。一方で、随時と絶食時にいずれの免疫染色にも差は認められなかった。

図 1、インスリンとグルカゴンの免疫染色



まとめ：膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスでは、insulinitisによりβ細胞の破壊と構造変化が認められるが、インスリン陽性細胞は残存していた。野生型マウスに比べ、病理学的には障害を認めるものの血中インスリンはむしろ

る高値であった。またグルカゴン陽性細胞はほとんど同定できなかつたが、血中グルカゴンは野生型と同等であり、少なくとも低下はしていなかつた。一方でTNF α はINSプロモーター下で発現させているのでインスリン陽性細胞と一致した発現が観察された。野生型と比較し、膵 β 細胞特異的TNF α 過剰発現マウスで有意に高く発現しているのは間違いないが、血中TNF α は両マウス間に差はなく、既報の通り、膵 β 細胞で過剰発現したTNF α は血中濃度に影響を与えていないことを示している。

さて膵 β 細胞局所で発現したTNF α がparacrine的に α 細胞ならびに δ 細胞を障害し、グルカゴンやソマトスタチン陽性細胞の有意な低下をきたしている可能性は十分に考えられる。一方で、血中グルカゴンは少なくとも低下しておらず、免疫染色と血中濃度とは明らかな乖離が認められた。このことは免疫染色では当該のホルモン産生細胞の状態を示しているが分泌動態は反映していないことを示している。事実、血中インスリンは食事による大きな変化が観察されているが、免疫染色には全く差がなかつた。

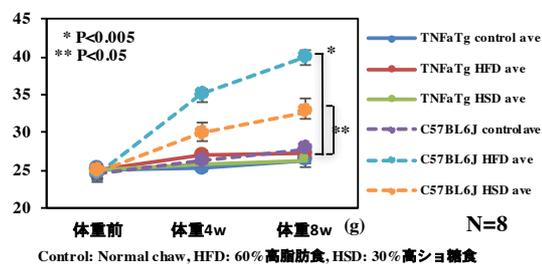
(1)膵 β 細胞特異的TNF α 過剰発現マウスのインスリン陽性細胞は減少しているものの、血中インスリン値は野生型より高かつた。(2)一方でグルカゴン陽性細胞はほとんど認められなかつたが、グルカゴン値は野生型と同等であった。(3)野生型と比べ、膵 β 細胞特異的TNF α 過剰発現マウスでは糖代謝は明らかに良好であり、IPITTでは遷延性の低血糖を呈した。これらの結果を総合的に判断すると、膵 β 細胞特異的TNF α 過剰発現マウスの血中グルカゴン量は野生型マウスレベルであるものの、paracrineしたTNF α により障害を受け、機能的には低下したものであり、相対的にインスリン作用が有意になった結果ではないかと推察される。また野生型マウスでは、摂食状態によるインスリン分泌変化は劇的であったが、膵 β 細胞特異的TNF α 過剰発現マウスでは常に高いものの、摂食による変動は明らかに弱かつた。つまりインスリンの基礎発現また栄養状態による分泌調節も何らかの影響を受けている可能性が考えられる。これには機能的低下が疑われるグルカゴンまたソマトスタチンなどの膵ランゲルハンス島由来の因子の関与、またautocrineしたTNF α の直接作用などが考えられ、膵 β 細胞特異的TNF α 過剰発現マウスのインスリン自体も機能的に正常とは言えないのかもしれない。事実、野生型より随時インスリン値は3倍程度高く、グルカゴンの機能的低下が疑われるにも関わらず、低血糖には至っていなかつた。

(5)膵 β 細胞特異的TNF α 過剰発現マウスに食事負荷をした際の検討

①両マウスともに、高脂肪食時には飲水量が有意に低く、一方で、高シヨ糖食時には両マウスともに普通食ペレットの摂食量が有意に低かつた。また両マウスともに高シヨ糖水による飲水量は普通食時の水道水の飲水量の約2倍程度に上昇していた。

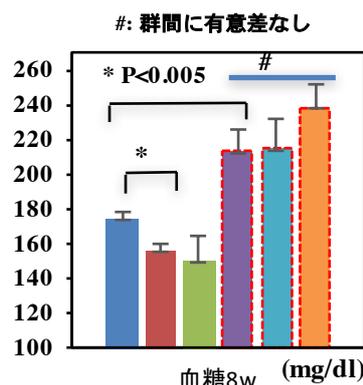
野生型マウスの体重は、過栄養負荷により、有意に増加したが、膵 β 細胞特異的TNF α 過剰発現マウスでは体重増加は全く観察されなかつた(図2)。副睪丸周囲脂肪量は、野生型マウスでは高脂肪食負荷で普通食時の約7.7倍、高シヨ糖負荷で普通食時の約3倍であり、体重増加に相応した。一方で膵 β 細胞特異的TNF α 過剰発現マウスでは、過栄養負荷による体重増加は認めなかつたが、副睪丸周囲脂肪量は高脂肪食負荷で普通食時の約2.4倍有意に高かつた。

図2、60%高脂肪食、30%高シヨ糖食負荷時の体重変化



膵 β 細胞特異的TNF α 過剰発現マウスは野生型マウスより随時血糖が低く(いずれの群も200mg/dl未満)、高脂肪食負荷時には、むしろ血糖は有意に低下していた(図3)。普通食群のインスリン値は、膵 β 細胞特異的TNF α 過剰発現マウスは野生型マウスより有意に高かつた。しかし、食事負荷後のインスリンには両マウスに差はなかつた。野生型マウスにおいて、インスリンは高脂肪食群で高値を示すものの、随時での採血であったためか、有意な差は認めなかつた。一方で普通食群のグルカゴン値は、両マウスに差を認めなかつたが、高脂肪食群のグルカゴン値は両マウスともに有意に上昇していた。TNF α は両マウスにおいて、いずれの食事負荷によっても、5-6pg/ml程度と検出感度下限であり、これまでのデータと同様に血中TNF α の上昇は観察されなかつた。

図3、60%高脂肪食、30%高シヨ糖食負荷時の随時血糖の比較

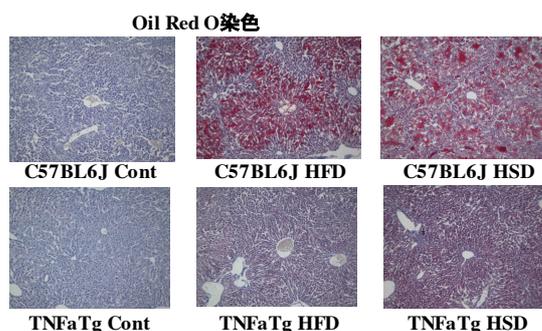


野生型マウスでは、高脂肪食また高シヨ糖食負荷群の肝臓重量に有意な変化は認めなかった。一方で、膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスでは過栄養負荷で肝臓重量が有意に低下しており（普通食 vs 高脂肪食 vs 高シヨ糖食=1.37g vs 1.13g vs 1.27g）、高脂肪食群の肝臓重量が一番小さく、次に高シヨ糖食負荷群、普通食群の肝臓重量が一番大きかった。

②両マウスともに、インスリン、グルカゴン、ソマトスタチンの免疫染色には食事負荷による変化は認めなかった。

野生型マウスでは、過栄養負荷により、肝臓への明らかな脂肪蓄積が観察され、脂肪肝を呈していた。その程度は高シヨ糖食負荷によるものが一番強いと思われた。一方で、膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスでも、過栄養負荷により、肝臓への脂肪蓄積が観察されたが、その程度は野生型マウスと比較して明らかに軽かった（図4）。

図4、60%高脂肪食、30%高シヨ糖食負荷時の肝臓 oil-red O 染色での比較



まとめ：一般的にマウスは甘い水を好み、飲水から高栄養が摂取できるときには固形食の摂取が大きく減っていた。膵β細胞特異的 TNFα過剰発現マウスではAVPが高発現しているため、いずれの食事においても飲水量は有意に少なかったが、この傾向は同様に観察された、本研究により、膵β細胞特異的TNFα過剰発現マウスは過栄養負荷に対しても肥満抵抗性かつ糖尿病抵抗性であり、さらに脂肪肝抵抗性であることが判明した。過栄養負荷により、膵β細胞特異的TNFα過剰発現マウスでも副睾丸周囲脂肪量は有意に増加するが体重には反映していなかった。また脂肪肝を呈するものの、肝臓重量は過栄養負荷群の方がむしろ有意に低下していた。後者は何らかの成分の量的減少が、肝臓内への脂肪蓄積を凌駕していることを意味している。

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0件）

〔学会発表〕（計2件）

- ① 加隈哲也. 肥満「症」としての2型糖尿病治療 -最近の話題と課題-. 第54回日本糖尿病学会九州地方会 教育講演 2016, 10.14-15. かごしま県民交流センター（鹿児島県鹿児島市）
- ② 後藤孔郎, 正木孝幸, 加隈哲也, 柴田洋孝. 腸・肝・脳連関におけるグルカゴン分泌調節機構. 第41回日本神経内分泌学会学術集会 2014, 10.31-11.2. 都道府県会館（東京都千代田区）

〔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〕特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

加隈 哲也 (KAKUMA TETSUYA)

大分大学・保健管理センター・准教授

研究者番号：80343359

(2) 研究分担者

柴田 洋孝 (SHIBATA HIROTAKA)

大分大学・医学部・教授

研究者番号：20245484

正木 孝幸 (MASAKI TAKAYUKI)

大分大学・医学部・講師

研究者番号：00423715

後藤 孔郎 (GOTOH KORO)

大分大学・医学部・助教

研究者番号：10457624