

令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：32676

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07065

研究課題名(和文) 中枢神経による血糖調節機構の解明 - 中枢ドパミン神経による血糖調節 -

研究課題名(英文) Role of central dopaminergic functions in regulation of plasma glucose levels

研究代表者

池田 弘子 (Ikeda, Hiroko)

星薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：70297844

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、中枢神経による血糖調節機構を解明する一環で、中枢のドパミン神経による血糖調節機構について研究した。その結果、中枢のドパミンD2受容体は自律神経を介して肝糖産生を亢進し、血糖値を上昇させることが明らかになった。また、1型糖尿病ではこの作用が減弱することが示された。以上の結果より、中枢神経は血糖調節において重要な役割を果たすことや、糖尿病時にその調節機構が変化することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病は、慢性的な高血糖状態により様々な合併症をひき起こすことから、その治療において血糖値を正常に保つことが重要である。糖尿病治療には様々な薬が用いられるが、その効果は十分ではなく、さらなる血糖調節機構の解明が必要である。本研究では新たな血糖調節機構として中枢神経に着目し、中枢のドパミン神経が血糖値を調節することを明らかにした。糖尿病の有病者数は多く、その改善が急務であることから、血糖調節機構の解明は新たな治療戦略に繋がり、社会的意義は高いと考える。

研究成果の概要(英文)：The present study investigated the role of central dopaminergic functions in regulation of plasma glucose levels. Our results indicated that central dopamine D2 receptors regulate plasma glucose levels by regulating hepatic glucose production through autonomic nerves. In addition, regulation of plasma glucose levels by central dopamine D2 receptors was attenuated in type 1 diabetic mice. These results suggest that central dopaminergic functions play an important role in regulation of plasma glucose levels, and that this regulation is changed in diabetes mellitus.

研究分野：神経科学

キーワード：血糖調節 ドパミン受容体 自律神経 糖尿病

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生活習慣の変化に伴い、糖尿病患者数は日本のみならず世界中で増加し、社会問題となっている。糖尿病は、慢性的な高血糖状態により様々な合併症を発症することから、糖尿病治療において、血糖値を正常に保つことが重要である。これまでに様々な糖尿病治療薬が開発・使用されてきたが、その効果は十分でなく、さらなる血糖調節機構の解明が待たれる。

申請者は、これまでに統合失調症治療薬のオランザピンが中枢を介して肝糖産生を亢進させることで血糖上昇作用を示すことを明らかにしている (Diabetes Obes Metab 15, 1128-1135, 2013)。さらに、オランザピンが作用する受容体のうち、ドパミン D2 受容体、ヒスタミン H1 受容体ならびに 1 アドレナリン受容体を拮抗することによって血糖上昇作用が発現することも報告しており (Neuroendocrinology 98, 224-232, 2013)、中枢のドパミン神経やヒスタミン神経、ノルアドレナリン神経が血糖調節に重要な役割を果たす可能性が考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、血糖調節に関与する可能性が考えられる神経のうち、ドパミン神経に注目し、ドパミン神経の血糖調節における役割について明らかにすることを目的とした。具体的には、

- (1) 中枢のドパミン D1 および D2 受容体の血糖調節における役割
- (2) 中枢のドパミン受容体を介した血糖調節の発現機序
- (3) 糖尿病における中枢のドパミン神経による血糖調節機構の変化について検討した。

3. 研究の方法

(1) 実験動物

実験には ICR 系雄性マウスを用いた。1 型糖尿病モデルとして、streptozotocin (STZ) を投与したマウスを用いた。また、C57BL/6J 系雄性マウスに高脂肪飼料を 16 週間負荷した食餌誘発性肥満 (DIO) マウスは高血糖やインスリン抵抗性といった 2 型糖尿病様の症状を示すことから、この DIO マウスを 2 型糖尿病モデルとして使用した。なお本実験は、星薬科大学動物実験指針に従い、星薬科大学動物実験委員会の承認を得た上で、動物に対する倫理面を十分に考慮して行った。

(2) 血糖値の測定

マウスの尾側静脈から採血を行い、採取した血液を 600 × g で遠心分離し、上清中のグルコース量をグルコース CII テストワコー (和光純薬工業) を用いて測定した。

(3) 血中グルカゴンおよびインスリン濃度の測定

薬物投与後に採血し、アプロチニンを添加した。血漿中のグルカゴンおよびインスリン濃度は、グルカゴン EIA キットならびにマウスインスリン ELISA キットを用いて測定した。

(4) 肝臓グリコーゲン量の測定

薬物を投与後に肝臓を採取し、肝臓中のグリコーゲン量を Glycogen Colorimetric Assay kit (Bio Vision) を用いて測定した。

(5) RT-PCR 法

薬物を投与した後に、マウスの肝臓を採取し、RNAiso Plus (タカラバイオ) を用いて total RNA を抽出した。cDNA 作製には、PrimeScript® RT reagent Kit (タカラバイオ) を使用した。得られた cDNA を用いて、G6Pase ならびに PEPCK の mRNA の発現変化について PCR 法により測定した。

4. 研究成果

(1) 中枢のドパミン D1 および D2 受容体の血糖調節における役割

ドパミン受容体はドパミン D1 受容体と D2 受容体に大別されることから、中枢におけるドパミン D1 ならびに D2 受容体の刺激または拮抗が血糖値に及ぼす影響について検討した。

まず、中枢のドパミン D1 受容体が血糖調節に関与するか検討した。ドパミン D1 受容体作動薬の SKF 38393 またはドパミン D1 受容体拮抗薬の SCH 23390 を脳室内に投与したところ、どちらの投与によっても、血糖値の有意な変化は認められなかった。この結果から、中枢のドパミン D1 受容体は血糖調節に関与しないことが示唆された。

次に、中枢のドパミン D2 受容体が血糖調節に関与するか検討した。ドパミン D2 受容体作動薬の quinpirole を脳室内に投与したところ、用量依存的に血糖値の上昇が認められた。また、ドパミン D2 受容体拮抗薬の l-sulpiride を投与した際にも血糖値は有意に上昇した。さらに、quinpirole による血糖上昇作用は、単独では効果を示さない用量の l-sulpiride を併用することにより抑制された。以上の結果から、ドパミン D2 受容体は、刺激しても拮抗しても血糖値を上昇させることが示唆された。

(2) 中枢のドパミン D2 受容体を介した血糖調節に対するホルモンの関与

血糖調節には、血糖値を上昇させるホルモンであるグルカゴンや、血糖値を低下させるホルモンであるインスリンが関与することが知られる。そこで、中枢のドパミン D2 受容体による血糖調節に、グルカゴンやインスリンが関与するか検討した。Quinpirole または l-sulpiride を脳室内投与した後に血中ホルモン濃度を測定した結果、どちらの薬物を投与してもグルカゴンならびにインスリン濃度は変化しなかった。この結果から、中枢のドパミン D2 受容体による血糖調節にホルモンの分泌変化は関与しないことが示唆された。

(3) 中枢のドパミン D2 受容体を介した血糖調節に対する肝糖産生の関与

肝臓におけるグリコーゲンの分解や糖新生により血糖値は上昇することが知られる。そこで、中枢のドパミン D2 受容体による血糖上昇作用にグリコーゲン分解の亢進や糖新生の亢進が関与するか検討した。

中枢のドパミン D2 受容体による血糖調節に肝臓におけるグリコーゲン分解が関与するか検討した。Quinpirole または l-sulpiride を脳室内投与した後に肝臓中のグリコーゲン量を測定した結果、quinpirole を投与した場合のみ、グリコーゲン量の低下が認められた。この結果から、中枢のドパミン D2 受容体の刺激は、肝臓でのグリコーゲン分解を亢進して血糖値を上昇させることが示唆された。

さらに、中枢のドパミン D2 受容体による血糖調節に肝糖新生が関与するか明らかにする目的で、肝糖新生の律速酵素である glucose-6-phosphatase (G6Pase) ならびに phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) の mRNA 発現量の変化について検討した。その結果、肝臓中 G6Pase ならびに PEPCK の mRNA 発現量は、quinpirole または l-sulpiride のどちらを脳室内投与しても有意に増加した。この結果から、中枢のドパミン D2 受容体の刺激または拮抗のどちらによっても、肝糖新生が亢進することが示唆された。

(4) 中枢のドパミン受容体を介した血糖調節に対する自律神経の関与

肝糖産生は、交感神経および副交感神経により支配されることが知られる。また、自律神経は中枢神経により調節されることも報告されている。したがって、中枢のドパミン D2 受容体による血糖調節が自律神経を介する可能性が考えられる。そこで、中枢のドパミン D2 受容体による血糖調節に対する交感神経ならびに副交感神経の関与について検討した。

交感神経は、その活性化により α_2 アドレナリン受容体を介して糖産生を亢進することが報告されている。そこで、 α_2 アドレナリン受容体拮抗薬の ICI 118,551 を末梢投与することにより、ドパミン D2 受容体による血糖上昇作用が影響を受けるか検討した。その結果、quinpirole の脳室内投与による血糖上昇作用は ICI 118,551 を前投与しても影響を受けなかった。一方、l-sulpiride の脳室内投与による血糖上昇作用は ICI 118,551 の併用投与により抑制された。これらの結果から、中枢のドパミン D2 受容体の拮抗は、交感神経を活性化することで血糖値を上昇させることが示唆された。

一方、副交感神経は、その活性により肝糖産生を抑制することが知られる。したがって、中枢のドパミン D2 受容体は副交感神経を抑制することで肝糖産生を亢進する可能性が考えられる。そこで、迷走神経肝枝を切断したマウスを用いて、副交感神経の関与について検討した。その結果、迷走神経肝枝切断マウスでは、quinpirole による血糖上昇作用が認められなかったが、l-sulpiride による血糖上昇作用は認められた。この結果から、中枢のドパミン D2 受容体の刺激は、副交感神経を介して血糖値を上昇させることが示唆された。

(5) 糖尿病における中枢のドパミン神経による血糖調節機構の変化

1 型糖尿病モデルである STZ 誘発糖尿病マウスの脳室内に quinpirole を投与したところ、血糖上昇作用は認められなかった。また、STZ 誘発糖尿病マウスに l-sulpiride を投与した場合にも血糖値は上昇しなかった。中枢のドパミン D2 受容体を介した血糖上昇作用には肝糖産生の亢進が関わることから、STZ 誘発糖尿病マウスの肝糖産生について検討した。その結果、STZ 誘発糖尿病マウスでは肝グリコーゲン量が減少し、quinpirole または l-sulpiride の脳室内投与によって G6Pase および PEPCK の mRNA 発現量は増加しなかった。この結果から、STZ 誘発糖尿病マウスでは肝糖産生能が低下することで中枢のドパミン D2 受容体による血糖上昇作用が消失したものと考えられる。

一方、2 型糖尿病を呈する DIO マウスに quinpirole を脳室内投与したところ、血糖値が上昇した。また、DIO マウスに l-sulpiride を脳室内投与した場合にも、血糖上昇作用が認められた。この結果から、DIO マウスでは中枢のドパミン D2 受容体を介した血糖上昇作用は変化していない

いことが示唆された。

以上の本研究の結果より、中枢のドパミン D2 受容体は血糖値を調節することが明らかになった。中枢のドパミン D2 受容体の刺激は、副交感神経を抑制することで肝糖産生を亢進し、血糖値を上昇させることが示唆された。一方、中枢のドパミン D2 受容体の拮抗は、交感神経の活性化を介して肝糖産生を亢進し、血糖値を上昇させることが示唆された。また、1 型糖尿病では、中枢のドパミン D2 受容体を介した血糖上昇作用が減弱していることが示された。

これまで、血糖調節にはさまざまな末梢臓器や末梢由来のホルモンが関与することが示されてきたが、本研究により血糖調節において中枢神経も重要な役割を果たすことが明らかになった。昨今、糖尿病人口は世界的に増加していることから、血糖調節機構の解明は、その予防や対策に非常に重要である。本研究の発展は中枢神経による血糖調節機構の解明に繋がり、新たな予防戦略・治療戦略を提案できるものと期待する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Hiroko Ikeda, Risa Mikami, Naomi Yonemochi, Junzo Kamei
2. 発表標題 Dopamine D2 receptors in the CNS regulate blood glucose levels through the sympathetic and parasympathetic nerves
3. 学会等名 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 池田弘子、三上理沙、米持奈央美、夏目理恵、阿部学、崎村健司、亀井淳三
2. 発表標題 中枢ドパミンD2受容体は自律神経を介して糖代謝を調節する
3. 学会等名 Neuroscience 2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 池田弘子、米持奈央美、亀井淳三
2. 発表標題 糖尿病治療を目指した中枢神経による血糖調節機構の理解
3. 学会等名 第19回応用薬理シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 三上理沙、池田弘子、米持奈央美、亀井淳三
2. 発表標題 中枢のドパミンD2受容体を介した血糖調節機構
3. 学会等名 第38回日本肥満学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 池田弘子
2. 発表標題 中枢神経による血糖調節
3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会
4. 発表年 2019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 分 担 者	米持 奈央美 (Yonemochi Naomi) (50779824)	星薬科大学・薬学部・助手 (32676)	