

令和 2 年 5 月 27 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09833

研究課題名(和文) 神経および単球特異的GLP-1受容体欠損マウスを用いた臓器保護効果機序の検討

研究課題名(英文) Study of organ protection mechanism via GLP-1 receptor signaling using nerve and monocyte-specific GLP-1 receptor deficient mice

研究代表者

園田 紀之 (Sonoda, Noriyuki)

九州大学・大学病院・講師

研究者番号：30583182

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究において申請者らは神経ならびに単球特異的GLP-1受容体欠損マウスを開発した。表現型が明らかとなった単球特異的GLP-1受容体欠損マウスを中心に解析した。本マウスは対照群と比較し、一見、正常に発育し、明らかな代謝異常を認めなかったが、生後約18週齢から心拡張機能障害を有した。この原因として組織ならびに遺伝子レベルにおいて、心筋の繊維化を認めた。これらの知見から単球を介したGLP-1の生理作用として、繊維化を含む炎症を制御することで臓器保護効果を発揮することが考えられた。以上より臨床的にも認められているGLP-1受容体作動薬の心血管保護作用のメカニズムの一つであ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

本研究により消化管ホルモンであるGLP-1の生理的役割の新たな一端が明らかとなった。これまで人における心保護作用の少なくとも一部は単球に発現するGLP-1受容体の抗炎症、抗繊維化作用を介することを初めて明らかにした。その詳細な機序は今後の課題であるが、食事依存性に分泌されるホルモンであるGLP-1が臓器間ネットワークを介して多臓器へ作用を及ぼすメカニズムの解明が進めば、現在、臨床応用されている抗糖尿病薬としてのみならず、他の代謝疾患や炎症性疾患などにも臨床応用が可能となり、治療法が確立されていない多くの疾患への応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we developed neuronal and monocyte-specific GLP-1 receptor deficient mice. We especially focused on monocyte-specific GLP-1 receptor deficient mice. Monocyte-specific GLP-1 receptor deficient mice seemed to develop normally and showed no obvious metabolic abnormality, but has diastolic dysfunction from about age 18-week compared with the control group. It was confirmed myocardial fibrosis progresses at the tissue and gene level at this time. From these findings, it was considered that GLP-1 exerts an organ-protecting effect by controlling inflammation including fibrosis as a physiological action of GLP-1 mediated by monocytes. It is suggested that this is one of the mechanisms of cardiovascular protective action of GLP-1 receptor agonists which is clinically recognized.

研究分野：内分泌代謝学

キーワード：GLP-1 単球 炎症 心筋 臓器保護効果

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

GLP-1 は、食事に伴い腸管から分泌され、膵細胞からのインスリン分泌促進ならびに細胞のグルカゴン分泌抑制を行い、糖代謝を制御するペプチドホルモンである。GLP-1 受容体アナログならびに内因性 GLP-1 分解酵素阻害剤である DPP4 阻害薬はその有用性と安全性から、現在多くの 2 型糖尿病患者の治療に使用されている。一方、GLP-1 受容体は膵臓外にも広く分布しているのみならず、その生理作用が明らかではなかった。そこで本研究では神経細胞ならびに単球特異的 GLP-1 受容体欠損マウスを作成し、その生理作用と臨床応用への手がかりとなる研究を目指した。

2. 研究の目的

- (1) GLP-1 の神経ペプチドとしての生理作用、特に胸腹部内臓機能を制御している自律神経の神経伝達物質としての作用を明らかにする。
- (2) GLP-1 の炎症制御ホルモンとしての生理作用、特に単球における役割とその臓器保護作用を明らかにする。

上記を解明し、GLP-1 の有するエネルギー代謝、摂食や食欲、免疫調整作用を包括的に理解することが本研究の主な目的である。これら GLP-1 受容体を介する生理学的、病理病態学的役割を明らかにすることにより糖尿病やその合併症のみならず認知症などの変性疾患、炎症性疾患や癌など様々な疾患の治療にも応用できることが期待される。

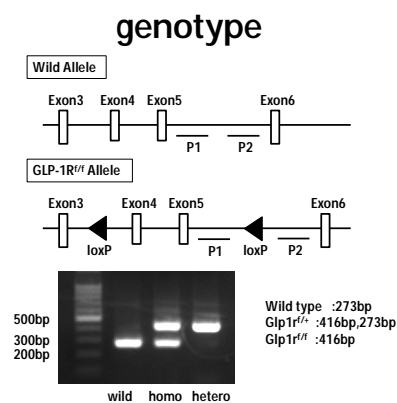
3. 研究の方法

- (1) 神経組織特異的 GLP-1 受容体欠損マウスおよび単球特異的 GLP-1 受容体欠損マウスの作成。
- (2) 上記遺伝子改変マウスを対照群との比較にて全身の代謝をはじめとした表現型の解析 心腎肝臓など主要臓器に重点をおいた臓器別の生理作用の解析 主要臓器へ糖尿病誘導ならびに肥満誘導における表現型の変化を観察する 表現型を認めた遺伝子改変マウスの組織や臓器に重点をおき、組織学的な解析や網羅的な遺伝子発現解析を介して、表現型を引き起こした機序を明らかにする 得られた知見に基づいた臨床応用への基盤理論の確立と動物モデルを用いての臨床応用への探索的研究を行う。

4. 研究成果

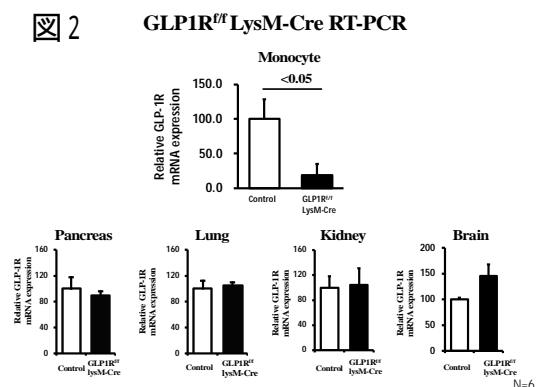
- (1) loxP 配列で GLP-1 受容体(*glp1r*)遺伝子のエクソン 4、5 を挟むターゲティングベクターを構築し、flox マウスの作成を行った (GLP-1 受容体 flox/flox マウス 図 1)。これにより理論的には全ての臓器における組織特異的な GLP-1 受容体を介する生理作用と病的状態における作用メカニズムの解析が可能となっている。その後 Cre-loxP システムを用いて *LysM*(lysozyme M)-Cre と *Nestin-Cre* マウスとの交配にて、単球系特異的ならびに神経組織特異的 GLP-1 受容体ノックアウトマウスを樹立した。神経組織特異的ノックアウトマウスは、全体の表現型をはじめ現在解析中であり、下記に単球系特異的 GLP-1 受容体ノックアウトマウス (GLP1-Rf/f *lysM-Cre*) のこれまでの解析結果について述べる。

図 1



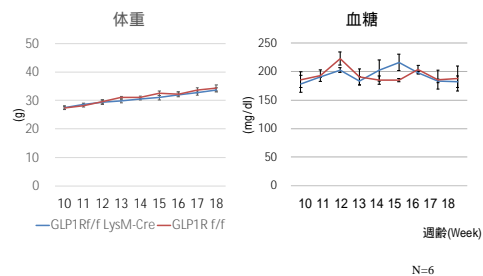
- (2) GLP1-Rf/f *lysM-Cre* マウスの GLP-1 受容体の遺伝子改変発現を確認したところ、図 2 に示すように対照群と比較し単球系特異的に GLP-1 受容体の発現低下が確認された。

図 2



(3) 図3に週齢ごとの体重と血糖の経過を示す。GLP1-Rf/f lysM-Cre マウスは対照群と比較し、成長や肉眼的には異常所見を認めなかった。

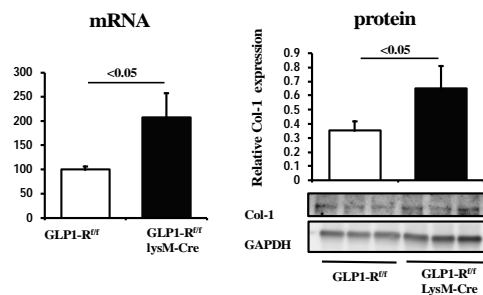
図3 体重・血糖



(4) 心機能を心エコーにて評価したところ、生後約18週齢前後にて左心室拡張の低下する所見を認めた。現在、この機能低下が生後どの時期で引き起こされるか、また、高脂肪食などの代謝負荷時の表現型やその詳細なメカニズムについて検討中である。

(5) GLP1-Rf/f lysM-Cre マウスが心機能低下を引き起こす機序の一つとして、網羅的な遺伝子発現の解析やRT-PCR法による解析により、コラーゲンIをはじめ線維化マーカーの発現上昇が認められた(図4)。

図4 心臓の線維化の評価 (Col-1) (20週齢)



(6) 以上より単球を介したGLP-1の生理作用として、繊維化を含む炎症を制御することで臓器保護効果を発揮することが考えられた。これらは臨床的にも認められているGLP-1受容体作動薬の心血管保護作用のメカニズムの一つであることが示唆された。

上記内容は未発表であり、今後、学会、学術論文等で発表予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	前田 泰孝 (Maeda Yasutaka) (00621377)	九州大学・大学病院・助教 (17102)	
研究協力者	井上 智彰 (Inoue Tomoaki)		
研究協力者	加来 真理子 (Kaku Mariko)		
研究協力者	小川 佳宏 (Ogawa Yoshihiro)		