

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 4月 9日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591135

研究課題名（和文） 膵β細胞ブドウ糖毒性の分子機構および治療法の検討
—転写因子 PDX-1 を中心に—

研究課題名（英文） Molecular mechanism for pancreatic beta-cell glucose toxicity

研究代表者

金藤 秀明（KANETO HIDEAKI）

大阪大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：80448034

研究成果の概要（和文）：

糖尿病モデルマウスを用いた検討により、GLP-1の分解酵素阻害薬であるアログリプチンとインスリン抵抗性改善薬であるピオグリタゾンの併用療法が、膵β細胞を「ブドウ糖毒性」から保護することが示唆された。

糖尿病モデルマウスを用いた検討により、銅イオンが2型糖尿病の病態に関与していること、また銅キレート剤が2型糖尿病の新しい治療法となる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Progressive beta-cell dysfunction and loss of beta-cell mass are fundamental pathogenic features of type 2 diabetes. To examine if anti-diabetic reagents, such as insulin, pioglitazone (pio), and alogliptin (alo), have protective effects on beta-cell mass and function in vivo, we treated obese diabetic db/db mice with these reagents. As the results, combination therapy with pio and alo almost completely normalized beta-cell function in vivo, which was comparable with insulin treatment.

Reactive oxygen species (ROS) are induced under diabetic conditions and are likely associated with the development of type 2 diabetes. It is also known that ROS production is facilitated in the presence of copper ion through the Fenton reaction. To examine the involvement of copper ion in the pathogenesis of type 2 diabetes, treated obese diabetic db/db mice with a copper chelating agent. As the results, copper chelating agent reduced ROS levels and decreased blood glucose level

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：代謝学

科研費の分科・細目：糖尿病学

キーワード：糖尿病、膵β細胞、ブドウ糖毒性、酸化ストレス、転写因子

1. 研究開始当初の背景

膵β細胞は慢性的に高血糖に曝されるとその機能が徐々に低下し、この現象は「膵β細胞のブドウ糖」として臨床的にも広く知られている。また、これまでに私どもはこの現象に酸化ストレスが関与することを報告してきた。また、銅イオンはフェントンを通じて酸化ストレスを惹起することが知られていることから、銅キレート剤により酸化ストレスの減少が期待される。

2. 研究の目的

(目的1)

どのような薬剤を使用すれば膵β細胞機能をこの「ブドウ糖毒性」から保護して、その機能を維持することができるかを、肥満2型糖尿病モデルマウスを用いて詳細に解析することである。

(目的2)

2型糖尿病モデルマウスに銅キレート剤を投与することによって、2型糖尿病の病態における銅イオンの関与を検討し、また銅キレート剤が2型糖尿病の新しい治療法となるかどうかを検討することである。

3. 研究の方法

(方法1)

肥満2型糖尿病モデルマウスであるC57BKsJ-db/dbマウスに対して、GLP-1の分解酵素ジペプチルペプチダーゼフォー(DPP-IV)の阻害薬であるアログリプチン、PPAR γ のアゴニストでインスリン抵抗性改善薬であるピオグリタゾン、持効型インスリンアナログであるグラルギンなどを投与して検討した。

(方法2)

2型糖尿病モデルマウスであるdb/dbマウス(10週齢)においては、コントロールマウスに比べて、血清銅値の増加が認められ、それに伴って血清ラジカル生成能の増加も認められた。次に、2型糖尿病の病態におけ

る銅イオンの関与を検討するために、2型糖尿病モデルマウスであるdb/dbマウス(8週齢)に銅キレート剤(tetrathiomolybdate)を飲料水に混入させて(0.02mg/ml)2週間経口投与群し、その効果を評価した。

4. 研究成果

(成果1)

アログリプチンとピオグリタゾンの併用療法およびインスリン治療により、膵β細胞機能が保持された。すなわち、インスリン合成、分泌が保持され、islet massも保たれていた。また、糖尿病状態において膵β細胞内に増加していた酸化ストレスがこれらの薬剤によって軽減していた。さらに、血糖値、HbA1cなどの有意な低下も認められており、これらの薬剤による糖代謝の有意な改善が認められた。このような結果から、肥満2型糖尿病モデルマウスにおいて、アログリプチンとピオグリタゾンの併用療法およびインスリン治療により、膵β細胞を「ブドウ糖毒性」から保護して、その機能が正常レベルに保持されることが示唆された。

(成果2)

db/dbマウス(8週齢)に銅キレート剤を飲料水に混入させて2週間経口投与群した結果、血清銅値の有意な低下が認められ、それに伴って血清ラジカル生成能の有意な低下も認められた。食事摂取量、体重などの変化は認められなかったが、銅キレート剤投与により、随時血糖値の有意な低下が認められた。さらに、投与終了時において、グルコース負荷試験にて耐糖能の改善、インスリン負荷試験にてインスリン抵抗性の軽減が認められた。また血中コレステロール値は変化を認めなかったが、中性脂肪値は有意に低下した。膵臓、肝臓、脂肪組織において形態学的な変化は認めなかった。このような結果から、銅イオンは2型糖尿病の病態に関与しており、また銅キレート剤は2型糖尿病の新しい治療法となる可能性が示唆された。

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6件)

1. Kawashima, S., Matsuoka, T., Kaneto, H., Tochino, Y., Kato, K., Yamamoto, K., Yamamoto, T., Matsuhisa, M., and Shimomura, I. Effect of alogliptin, pioglitazone and glargine on pancreatic β -cells in diabetic db/db mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 404, 534-540, 2011 (査読あり)
2. Kaneto, H., Katakami, N., Matsuhisa, M., and Matsuoka, T. Role of reactive oxygen species in the progression of type 2 diabetes and atherosclerosis. *Mediators Inflamm.* 453892, 1-11, 2010 (査読あり)
3. Matsuoka, T., Kaneto, H., Miyatsuka, T., Yamamoto, T., Yamamoto, K., Kato, K., Shimomura, I., Stein, R., and Matsuhisa, M. Regulation of MafA expression in pancreatic β -cells in db/db mice with diabetes. *Diabetes* 59, 1709-1720, 2010 (査読あり)
4. Tanaka, A., Kaneto, H., Miyatsuka, T., Yamamoto, K., Yoshiuchi, K., Yamasaki, Y., Shimomura, I., Matsuoka, T., and Matsuhisa, M. Role of copper ion in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Endocr. J.* 56, 699-706, 2009 (査読あり)
5. Kaneto, H., Matsuoka, T., Kawashima, S., Yamamoto, K., Kato, K., Miyatsuka, T., Katakami, N., and Matsuhisa, M. Role of MafA in pancreatic β -cells. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 61, 489-496, 2009
6. Kaneto, H., Matsuoka, T., Katakami, N., and Matsuhisa, M. Combination of MafA, PDX-1 and NeuroD is a useful tool to efficiently induce insulin-producing surrogate β -cells. *Curr. Med. Chem.* 16, 3144-3151, 2009 (査読あり)

[学会発表] (計38件)

1. 金藤 秀明「2型糖尿病の薬物療法 ～インクレチン製剤を中心に～」大阪糖尿病アカデミー (大阪) 12月3日 (2011)
2. 金藤 秀明「膵 β 細胞ブドウ糖毒性の分子機構の解析および膵 β 細胞への分化転換の試み」第29回大阪糖尿病研究会 (大阪) 11月12日 (2011)
3. 金藤 秀明「膵 β 細胞ブドウ糖毒性の分子機構 —インスリン、インクレチンを中心に—」房総糖尿病セミナー (千葉) 10月21日 (2011)
4. 金藤 秀明「メタボリックシンドロームに潜む健康リスク—正しく理解し糖尿病を予防するために—」働く人々のための健康フォーラム Vol. 5 (大阪) 10月15日 (2011)
5. 金藤 秀明「2型糖尿病の薬物療法 ～インクレチン製剤を中心に～」インクレチン研究会—循環器医編— (神戸) 9月29日 (2011)
6. 金藤 秀明「膵 β 細胞におけるインクレチンの重要性」大阪内分泌代謝ジョイントカンファレンス (大阪) 9月17日 (2011)
7. 金藤 秀明「糖尿病の研究および臨床の魅力」第5回大阪糖尿病臨床カンファレンス (大阪) 8月27日 (2011)
8. 金藤 秀明「膵 β 細胞ブドウ糖毒性の分子機構」膵内分泌を考える会 (福井) 8月19日 (2011)
9. 金藤 秀明「微侵襲食後高血糖モニタリングシステムの薬効評価への適用」第3回微侵襲食後高血糖モニタリングシステム研究会 (大阪) 8月8日 (2011)
10. 金藤 秀明「Role of MafA in pancreatic beta-cells」第5回 Diabetes Leading-edge Conference (滋賀) 8月6-7日 (2011)
11. 金藤 秀明「2型糖尿病の病態と最近の薬物治療」千里医師連合会学術講演会 (大阪) 7月30日 (2011)

12. 金藤 秀明「膵β細胞糖毒性の分子メカニズム」
第18回北野糖尿病内分泌倶楽部
(大阪) 6月30日 (2011)
13. 金藤 秀明「How could we bring out the usefulness of incretin therapy?」シンポジウム インスリン発見から90年—インスリン治療の現状と展望—第54回日本糖尿病学会年次学術集会(札幌) 5月19-21日 (2011)
14. 金藤 秀明「膵β細胞ブドウ糖毒性の分子機構—酸化ストレスおよびインクレチンを中心に—」第4回東京糖尿病治療フォーラム (東京) 4月27日 (2011)
15. 金藤 秀明「2型糖尿病の病態および最近の薬物治療」守口市医師会学術講演会 (守口) 4月22日 (2011)
16. 金藤 秀明「2型糖尿病の病態と最近の薬物療法」Oita Diabetes Expert Club (大分) 2月28日 (2011)
17. 金藤 秀明「糖尿病治療における最新の話題—インクレチン剤を含めた経口糖尿病薬の使い分け—」赤穂市医師会学術講演会 (赤穂) 2月4日 (2011)
18. 金藤 秀明「2型糖尿病の病態および最近の薬物療法」千里糖尿病セミナー (大阪) 1月27日 (2011)
19. 金藤 秀明「2型糖尿病の病態解明および膵β細胞の分化再生療法に向けて」Diabetes Face to Face (大阪) 11月25日 (2010)
20. 金藤 秀明「膵β細胞ブドウ糖毒性の分子機構」糖尿病治療カンファレンス (大阪) 10月7日 (2010)
21. 金藤 秀明「2型糖尿病の病態および最近の薬物治療」病診連携の会 (大阪) 9月18日 (2010)
22. 金藤 秀明「2型糖尿病の病態解明および最近の薬物治療」北河内糖尿病座談会 (大阪) 9月4日 (2010)
23. 金藤 秀明「2型糖尿病の病態解明および膵β細胞の分化再生療法に向けて」第42回ニ季会 (大阪) 8月21日 (2010)
24. 金藤 秀明「2型糖尿病の病態および最近の薬物治療」第53回日本DDS学会ランチョンセミナー (大阪) 6月17-18日 (2010)
25. 金藤 秀明「Molecular mechanism for pancreatic beta-cell glucose toxicity」シンポジウム beta cell failure~beta細胞不全の原因とそのメカニズム 第53回日本糖尿病学会年次学術集会 (岡山) 5月27-29日 (2010)
26. 金藤 秀明「膵β細胞糖毒性の分子メカニズム」第44回糖尿病学の進歩 (大阪) 3月5-6日 (2010)
27. 金藤 秀明「膵β細胞ブドウ糖毒性の分子機構—酸化ストレスおよびインクレチンを中心に—」インクレチン研究会 in 阪神 (西宮) 1月23日 (2010)
28. 金藤 秀明「酸化ストレスによる膵β細胞機能障害」座談会 膵島機能不全の病態と今後の治療展望 (東京) 11月27日 (2009)
29. 金藤 秀明「2型糖尿病の病態と治療」大阪狭山糖尿病談話会 (大阪) 11月12日 (2009)
30. 金藤 秀明「2型糖尿病の病態と治療」藤井寺市医師会学術講演会 (大阪) 10月24日 (2009)
31. 金藤 秀明「膵β細胞ブドウ糖毒性の分子機構—酸化ストレスおよびインクレチンを中心に—」Incretin Active Meeting (札幌) 10月16日 (2009)
32. 金藤 秀明「膵β細胞ブドウ糖毒性の分子機構」第13回病態代謝・血管医学セミナー (熊本) 9月10日 (2009)
33. 金藤 秀明「膵β細胞の障害因子」栃木県糖尿病専門医会 (栃木) 7月24日 (2009)
34. 金藤 秀明「2型糖尿病の病態と治療」

丹波市医師会学術講演会（丹波篠山）7月16日（2009）

35. 金藤 秀明「膵β細胞ブドウ糖毒性の分子機構—酸化ストレスおよびインクレチンを中心に—」糖尿病学術講演会（富山）6月25日（2009）
36. 金藤 秀明「膵における転写因子PDX-1の重要性」The Study of Molecular Diabetology（仙台）6月22日（2009）
37. 金藤 秀明「膵における転写因子PDX-1の重要性」Meet the Expert Conference（大阪）6月12日（2009）
38. 金藤 秀明「酸化ストレスを介した膵β細胞機能障害の分子機構」大分大学研究会（大分）2月13日（2009）

〔図書〕（計16件）

1. 金藤 秀明「2型糖尿病の病態および最近の薬物療法」守口市医師会会報 第97号118-128, 2011
2. 高原充佳、金藤 秀明「DPP-4阻害薬」月刊糖尿病別冊 糖尿病治療薬ハンドブック 30-41, 2011
3. 金藤 秀明「インスリン療法とインクレチン注射療法の差別化」Diabetes in the News 第401号6-7, 2011
4. 金藤 秀明、松岡 孝昭「酸化ストレスとインスリン合成・分泌障害」糖尿病と酸化ストレス 27-34, 2011
5. 河盛 段、金藤 秀明「インクレチンの膵β細胞保護・増殖作用」日本臨床特集インクレチン関連薬 第69巻 第5号821-825, 2011
6. 金藤 秀明「酸化ストレスと小胞体ストレス」日本臨床 メタボリックシンドローム—基礎・臨床の最新知見— 171-175, 2011
7. 高原充佳、金藤 秀明「インクレチンとは、どこから出るホルモンですか？」特集：インクレチン製剤—基礎と臨床肥満と糖尿病 Vol.9, No. 4, 2010

8. 金藤 秀明「膵β細胞ブドウ糖毒性の分子メカニズム」糖尿病学の進歩 第44集 151-154, 2010
9. 金藤 秀明「糖尿病治療の実際とガイドライン」「糖尿病治療薬」座談会 治療学 Vol. 44, No. 1, 103-110, 2010
10. 金藤 秀明、松岡 孝昭「糖尿病とストレス応答」循環器ストレス学 301-306, 2009
11. 金藤 秀明、松岡 孝昭「糖毒性」糖尿病ナビゲーター 238-239, 2009
12. 金藤 秀明、松岡 孝昭「インスリン遺伝子転写調節のメカニズム」糖尿病ナビゲーター 38-39, 2009
13. 金藤 秀明「膵・細胞におけるインクレチンの役割」クリニシャン No. 580, 49-52, 2009
14. 金藤 秀明、松岡 孝昭、河盛 段、松久宗英「転写因子の核内輸送と糖代謝調節—膵β細胞を中心に—」Diabetes Frontier Vol 20, 229-233, 2009
15. 金藤 秀明、松岡 孝昭、松久宗英「インクレチンによる膵・細胞増殖」糖尿病治療のUp-to-Date 第64巻 34-37, 2009
16. 金藤 秀明「小胞体ストレスとインスリン抵抗性」カラー版糖尿病学 アップデート版I 6-8, 2009

6. 研究組織

(1) 研究代表者

金藤 秀明 (HIDEAKI KANETO)
大阪大学・医学系研究科・准教授
研究者番号：80448034

(2) 研究分担者

松岡 孝昭 (TAKA-AKI MATSUOKA)
大阪大学・医学系研究科・助教
研究者番号：10379258