

平成 30 年 6 月 26 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K16276

研究課題名(和文) 脂肪組織のGIPシグナルが高脂肪食摂食下にインスリン抵抗性を形成する機序の解明

研究課題名(英文) Study of GIPR signaling in adipose tissue under high-fat diet condition:  
Analysis of adipose tissue specific GIP receptor-deficient mice

研究代表者

松永 恵里奈(城尾恵里奈)(Matsunaga, Erina)

京都大学・医学研究科・特定研究員

研究者番号：40737871

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文): 脂肪組織GIP受容体のin vivoにおける役割を検討するため、脂肪組織特異的GIP受容体欠損マウスへ高脂肪食負荷を行った。欠損マウスは野生型マウスと比較して脂肪量に差を認めないが、インスリン抵抗性と脂肪肝の改善を認めた。また、脂肪組織のIL-6発現および血中IL-6濃度は、欠損マウスで有意に低下していた。脂肪細胞腫瘍株3T3-L1にTNF存在下でGIPを添加したところ、GIP非添加群と比較して培養液中のIL-6濃度が増加した。以上より、脂肪組織におけるGIPシグナルは、生体内でエネルギー蓄積よりむしろインスリン抵抗性や脂肪肝形成に働き、その機序にIL-6シグナルを介することが示唆された。

研究成果の概要(英文): GIP receptor (GIPR) directly induces energy accumulation in adipose tissue in vitro. However, the importance of the direct effect of GIPR signaling on adipose tissue in vivo remains unclear. In this study, we generated adipose tissue-specific GIPR knockout (KO) mice and investigated the direct actions of GIP in adipose tissue. Under high-fat diet (HFD)-fed conditions, KO mice had significantly lower body weight and lean body mass compared with those in floxed GIPR (WT) mice, although the fat volume was not significantly different between the two groups. Interestingly, insulin resistance, liver weight, and hepatic steatosis were reduced in HFD-fed KO mice. Plasma levels of interleukin-6 (IL-6), a proinflammatory cytokine that induces insulin resistance, were reduced in HFD-fed KO mice compared with those in HFD-fed WT mice. Thus, GIPR signaling in adipose tissue plays a critical role in HFD-induced insulin resistance and hepatic steatosis in vivo, which may involve IL-6 signaling.

研究分野：代謝栄養学

キーワード：GIP インクレチン 脂肪肝 インスリン抵抗性 肥満

### 1. 研究開始当初の背景

Gastric inhibitory polypeptide (GIP)は主に上部消化管に存在するK細胞から食事摂取により分泌される。分泌されたGIPは、血行性に膵細胞上のGIP受容体(GIPR)に結合し、催肥満作用を有するインスリン分泌を促進する。特にGIPは高脂肪食摂取時のインスリン分泌を増強し、肥満における高インスリン血症に関与する。一方、GIPRは、膵細胞ばかりでなく脂肪細胞にも発現し、*in vitro*の実験から脂肪組織への糖や脂質の取り込みを促進すると報告されている。以上から、GIPは脂肪組織への直接作用と膵細胞でのインスリン分泌増加を介した間接作用によって肥満を誘導する催肥満ホルモンであると考えられる。しかしGIPの両作用を区別して評価することは困難なため、脂肪組織のGIPシグナルが生体内でどのように影響するかは不明である。

### 2. 研究の目的

脂肪組織特異的GIPR欠損マウス(GIPR<sup>fat-/-</sup>)を用い、脂肪組織におけるGIPシグナルが肥満誘導やインスリン抵抗性形成にどのように関与するのかを明らかにする。

### 3. 研究の方法

Floxed GIPRマウス(WT)とaP2-Creトランスジェニックマウス交配によりGIPR<sup>fat-/-</sup>を作製した。WTとGIPR<sup>fat-/-</sup>に15週間の高脂肪食負荷(HFD)を行い、体重の推移を評価した。HFD後に経口ブドウ糖負荷試験(OGTT)、インスリン負荷試験(ITT)、脂肪および肝臓の重量や組織解析を行った。またインスリン負荷後のAKTリン酸化量を肝臓、脂肪組織、骨格筋で評価した。両マウス脂肪組織を用いてマイクロアレイを行い、GIPR<sup>fat-/-</sup>の表現型の機序を探索した。

### 4. 研究成果

脂肪組織において野生型GIPR mRNA発現がWTに比較してGIPR<sup>fat-/-</sup>で約90%低下した。(図1)

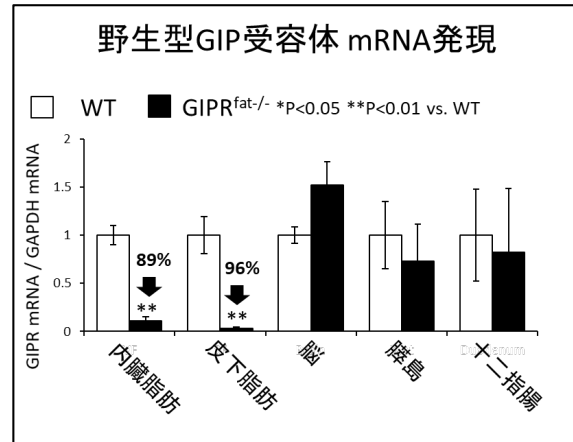


図1.

通常食(11%脂肪)負荷下では、体重や耐糖能、インスリン感受性、脂肪量、肝臓重量に有意な差を認めなかった。HFD12週目でGIPR<sup>fat-/-</sup>の体重は、WTに比較して有意にごく軽度低下した。摂食量や行動量は、両マウス間で有意な差を認めなかった。OGTT時の血糖値はGIPR<sup>fat-/-</sup>で低下し、インスリン値は有意な低下を認めた(図2)。ITTではGIPR<sup>fat-/-</sup>のインスリン感受性は著明に上昇していた(図3)。

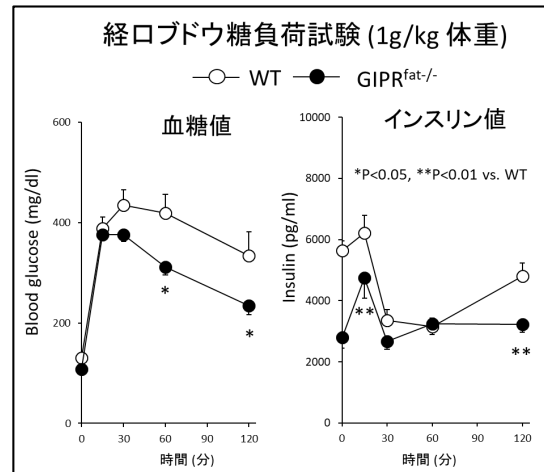


図2.

GIPR<sup>fat-/-</sup>の脂肪量や脂肪径は、WTと比較して有意な差は認めなかったが(図4)、GIPR<sup>fat-/-</sup>の肝臓重量や中性脂肪含有量は有意に低下し、脂肪肝が著明に改善した(図5)。肝臓、骨格筋、脂肪組織におけるAKTのリン酸化量は、WTに比較してGIPR<sup>fat-/-</sup>で増加した。

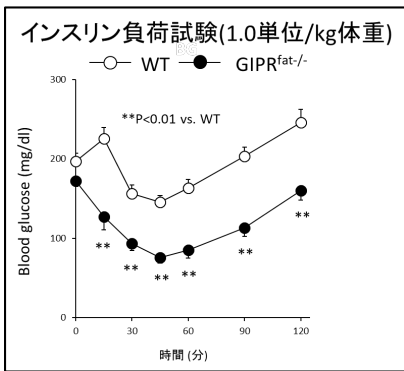


図3.

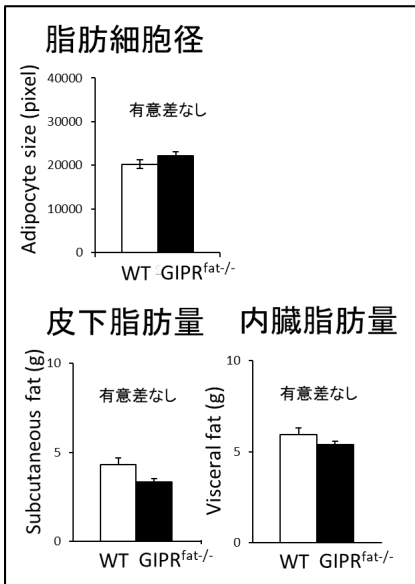


図4.

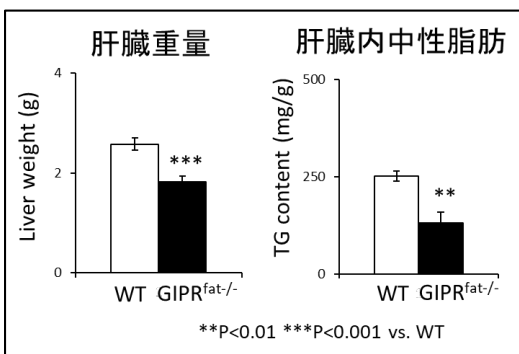


図5.

以上から *in vivo*における脂肪組織のGIPシグナルは、肥満の誘導よりむしろインスリン抵抗性や脂肪肝形成に作用することが示唆された。

次に WT と GIPR<sup>fat-/-</sup>の脂肪組織を用いてマイクロアレイ解析を行ったところ、炎症性サイトカインである interleukin-6 (IL-6)の遺伝子発現が WT に比較して GIPR<sup>fat-/-</sup>で有意に低

いことが判明した。脂肪組織の IL-6 mRNA 発現および血中 IL-6 濃度は、WT に比較して GIPR<sup>fat-/-</sup>で有意に低下していた (図 6, 7)。

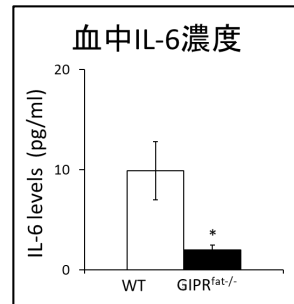


図6.

一方で TNF や IL-1 などのサイトカイン mRNA 発現、アディポネクチンやレプチンの mRNA 発現および血中濃度は両マウスで有意な差を認めなかった (図 7)。

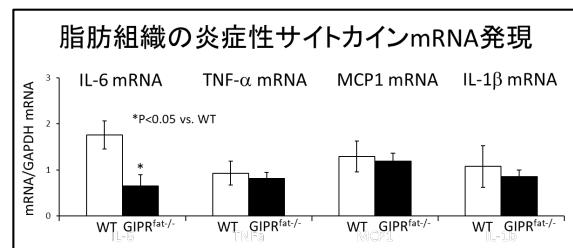


図7.

脂肪組織における GIP シグナルと IL-6 との関係の評価するため、脂肪細胞腫瘍株である 3T3-L1 に TNF 存在下で GIP を添加したところ、24 時間後の IL-6 mRNA 発現及び培養上清中の IL-6 濃度が増加した (図 8)。

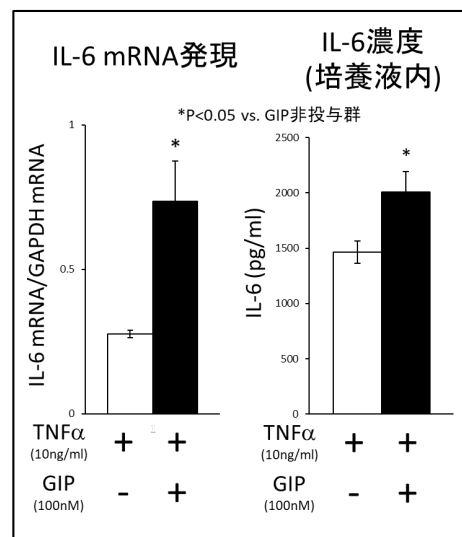


図8.

以上から脂肪組織の GIP シグナルは IL-6 mRNA 発現を高め、血中 IL-6 濃度を増加させることが明らかとなった。

次に IL-6 受容体などのサイトカイン受容体の下流シグナルでインスリン感受性や脂肪肝形成に關与する suppressor of cytokine signaling (SOCS)1 や SOCS3 の mRNA 発現を評価した。SOCS1 mRNA は、両マウスの肝臓、骨格筋、脂肪組織で有意な差を認めなかった。一方 SOCS3 mRNA は、GIPR<sup>fat-/-</sup>の脂肪組織と肝臓で有意に低下し、筋肉においても低下傾向を示した(図9)。

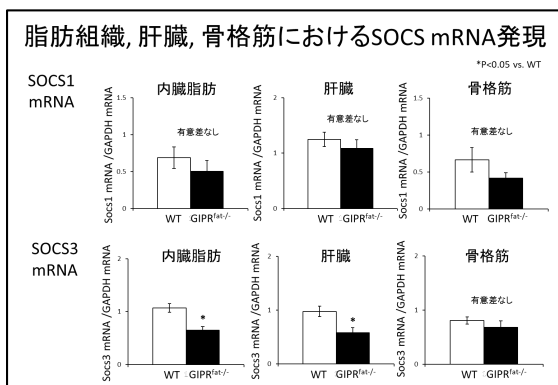


図9.

SOCS1 および SOCS3 は、肝臓での脂肪合成の key regulator である sterol regulatory element-binding protein (SREBP)-1c の遺伝子発現を正に調節することが報告されている。そこで SREBP-1c mRNA 発現を両マウス肝臓で評価したところ、GIPR<sup>fat-/-</sup>で有意に低下していた。

本研究により、高脂肪食摂取時に GIP は、主に膵細胞からのインスリン分泌増加を介して脂肪量を増加させ、主に脂肪組織への直接作用を介してインスリン抵抗性や脂肪肝を誘導すること、その機序に IL-6 シグナルが關与する可能性が示された。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計7件)

Joo E, Fukushima T, Harada N, Reed JC, Matsuzawa SI, Inagaki N. Ubc13

haploinsufficiency protects against age-related insulin resistance and high-fat diet-induced obesity. *Sci Rep.* 2016 Oct 31;6:35983. doi: 10.1038/srep35983.

Joo E, Harada N, Yamane S, Fukushima T, Taura D, Iwasaki K, Sankoda A, Shibue K, Harada T, Suzuki K, Hamasaki A, Inagaki N. Inhibition of Gastric Inhibitory Polypeptide Receptor Signaling in Adipose Tissue Reduces Insulin Resistance and Hepatic Steatosis in High-Fat Diet-Fed Mice. *Diabetes.* 2017 Apr;66(4):868-879. doi: 10.2337/db16-0758.

Shimazu-Kuwahara S, Harada N, Yamane S, Joo E, Sankoda A, Kieffer TJ, Inagaki N. Attenuated secretion of glucose-dependent insulintropic polypeptide (GIP) does not alleviate hyperphagic obesity and insulin resistance in ob/ob mice. *Mol Metab.* 2017 Jan 19;6(3):288-294. doi: 10.1016/j.molmet.2017.01.006.

Suzuki K, Iwasaki K, Murata Y, Harada N, Yamane S, Hamasaki A, Shibue K, Joo E, Sankoda A, Fujiwara Y, Hayashi Y, Inagaki N. Distribution and hormonal characterization of primary murine L cells throughout the gastrointestinal tract. *J Diabetes Investig.* 2018 Jan;9(1):25-32. doi: 10.1111/jdi.12681.

Maekawa R, Seino Y, Ogata H, Murase M, Iida A, Hosokawa K, Joo E, Harada N, Tsunekawa S, Hamada Y, Oiso Y, Inagaki N, Hayashi Y, Arima H. Chronic high-sucrose diet increases fibroblast growth factor 21 production and energy expenditure in

mice. *J Nutr Biochem*. 2017  
Nov;49:71-79.  
doi: 10.1016/j.jnutbio.2017.07.010.  
Mano F, Ikeda K, Joo E, Yamane S,  
Harada N, Inagaki N. Effects of three  
major amino acids found in Japanese  
broth on glucose metabolism and  
gastric emptying. *Nutrition*. 2018  
Feb;46:153-158.e1.  
doi: 10.1016/j.nut.2017.08.007.  
Maekawa R, Ogata H, Murase M, Harada  
N, Suzuki K, Joo E, Sankoda A, Iida A,  
Izumoto T, Tsunekawa S, Hamada Y, Oiso  
Y, Inagaki N, Arima H, Hayashi Y, Seino  
Y. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2018  
Jun 1;314(6):E572-E583.  
doi: 10.1152/ajpendo.00352.2017.

〔学会発表〕(計2件)

城尾恵里奈, 原田範雄, 池田香織, 山  
根俊介, 稲垣暢也. 脂質摂取時のイン  
クレチン GIP 分泌と肥満・インスリン抵  
抗性との関係について. 第 20 回日本病  
態栄養学会年次学術集会, 2017 年 01 月  
15 日, 京都

城尾恵里奈, 原田範雄, 山根俊介, 福  
島徹, 田浦大輔, 岩崎可南子, 渋江公尊,  
三小田亜希子, 村田由貴, 鈴木和代,  
浜崎暁洋, 稲垣暢也. 脂肪組織におけ  
る GIP シグナルは、高脂肪食摂取下のイ  
ンスリン抵抗性や脂肪肝の形成に關与  
する. 第 59 回日本糖尿病学会年次学術  
集会, 2016 年 05 月 19 日, 京都.

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

松永 恵里奈 (MATSUNAGA, Erina)

(城尾 恵里奈 (Joo, Erina))

京都大学・医学研究科・特定研究員

研究者番号 : 40737871