

平成21年5月27日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007—2008
 課題番号：19591032
 研究課題名（和文） GLP-1 と GIP による協調的なインスリン分泌促進機構に関する研究
 研究課題名（英文） Study on insulineropic mechanisms co-operated by GLP-1 and GIP
 研究代表者 山田 祐一郎（YAMADA YUICHIRO）
 秋田大学・医学部・教授
 研究者番号：60283610

研究成果の概要：

インクレチンである GLP-1 と GIP はインスリン分泌促進の点では、いずれも膵β細胞に協調的に作用する。骨の代謝では、GIP は骨芽細胞、GLP-1 は甲状腺C細胞に作用と、標的細胞は違うが、いずれも骨の強化に繋がる。しかしながら、体重に関しては全く逆の作用を示す。α-グルコシダーゼ阻害薬は GLP-1 や GIP の分泌動態を変えることを考えあわせると、インクレチンの生理作用の統合的な理解がインクレチン薬の理解に繋がる。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：代謝学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：糖尿病、シグナル伝達、インクレチン

1. 研究開始当初の背景

腸管は、生体の代謝においてシグナルを全身に向けて発信する起点となっており、栄養素の摂取とともに分泌される GLP-1 (glucagon-like peptide 1) や GIP (gastric inhibitory polypeptide) はインクレチンと総称されている。GLP-1 と GIP はいずれもインスリン分泌促進作用や膵β細胞増殖作用といった膵作用を有し、二つのインクレチンはお互いに協調して作用している。一方、膵外作用に関しては、GLP-1 は胃や小腸の運動抑制作用や中枢神経系を介した食欲抑制作用を有している。また、GIP は脂肪細胞に直

接作用してグルコースや遊離脂肪酸の取り込みを亢進し脂肪細胞への脂肪蓄積に働き、骨芽細胞に直接作用し破骨細胞機能を抑えることによって食事に含まれるカルシウムの骨への蓄積に働く。

GLP-1 誘導体や DPP-IV 阻害薬（内因性の GLP-1 や GIP 活性を亢進する）が新たな糖尿病治療薬としてわが国でも臨床試験が進んでいるが、糖尿病・肥満など代謝疾患の発症機構や治療にはこれらインクレチンの生理作用を総合的に解析し、インクレチンによる代謝恒常性維持ならびにその破綻の機構を解明することが必要と考え、本研究を開始し

た。

2. 研究の目的

多彩なインクレチン作用は、最終標的細胞・組織（膵作用＝膵β細胞、膵外作用＝中枢神経系・脂肪細胞など）で発揮される効果を、2種類のインクレチンがどのように協調して作用を發揮するか解析する。

3. 研究の方法

(1) 脂肪細胞とインクレチンシグナル

野生型マウスならびに GIP 受容体欠損マウスを通常食摂取下で長期間飼育した。グルコース負荷試験やインスリン負荷試験で糖代謝を評価、膵島を単離することでインスリン分泌能を評価、CT で体組成を評価、持続的に脈拍や体温等を測定することで全身の代謝を評価した。

(2) 骨とインクレチンシグナル

野生型マウスならびに GLP-1 受容体欠損マウスの骨の CT、骨の組織所見、骨代謝試験、甲状腺 C 細胞の評価等を行った。

(3) インクレチン発現と α グルコシダーゼ

2 型糖尿病患者に食事を負荷し、血中インクレチン値の推移を検討した。その後、2 週間にわたり α -グルコシダーゼ阻害薬を服用させ、再び食事負荷試験を行った。

4. 研究成果

(1) 脂肪細胞とインクレチンシグナル

GIP 受容体は脂肪細胞に発現し脂肪など栄養素の蓄積を促進するが、この作用は GLP-1 には認められない。研究代表者は高脂肪食や過食で GIP シグナルがないと、体重増加が抑制されることを示しているが、通常食で飼育しても、GIP 受容体欠損マウスは加齢に伴う内臓脂肪や皮下脂肪の蓄積がなく、インスリン抵抗性が惹起されないことを明らかにした。したがって、膵β細胞へのインスリン分泌需要が低いため、単離した膵島を用いた分泌実験で、グルコース濃度に応じたインスリン分泌は保持され、in vivo においては加齢に伴い耐糖能が改善する結果を得た。これは、野生型や GLP-1 受容体欠損マウスでは、内臓脂肪の蓄積・インスリン抵抗性の増加によって、インスリンが過剰分泌することで、耐糖能が維持されているのと対照的である。

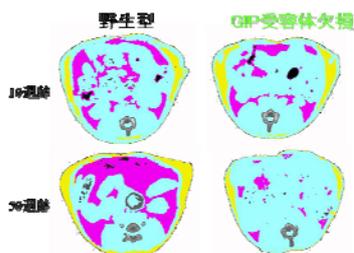


図1 加齢と GIP シグナル

野生型マウスでは加齢に伴い内臓脂肪や皮下脂肪が増加するが、GIP 受容体欠損マウスではいずれも変化しない。

(2) 骨とインクレチンシグナル

GIP 受容体欠損マウスでは骨粗鬆症の所見を呈するが、GIP が骨芽細胞に発現している GIP 受容体に作用することで破骨細胞機能を抑制していることを明らかにしている。今回、GLP-1 受容体欠損マウスを解析すると、やはり骨粗鬆症を呈していた。しかしながら、GLP-1 受容体は骨芽細胞や破骨細胞には発現しておらず、GLP-1 は甲状腺 C 細胞に発現している GLP-1 受容体に作用してカルシトニンを増加させることで、破骨細胞を抑制することを明らかにした。このように、GLP-1 と GIP は膵β細胞外でも協調的に作用していることを明らかにした。

(3) インクレチン発現と α グルコシダーゼ

日本人 2 型糖尿病患者で、テストミール(炭水化物 56.5g、蛋白質 18g、脂質 18g) 負荷後、GIP 上昇のピークは 30 分後であるのに比し、GLP-1 のピークは 60 分後と遅く上昇の程度も軽微であり、GIP 産生細胞が上部消化管、GLP-1 産生細胞が下部消化管に存在する発現様式に合致した。

α グルコシダーゼ阻害薬を 2 週間投与し、再び食事負荷試験を施行したところ、GIP の分泌は著明に低下したのに対し、GLP-1 は 60-180 分後という時間帯で上昇した。食事摂取後のインクレチンの分泌には単糖が重要であることを示している。

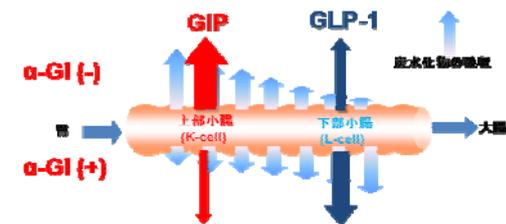


図2 α グルコシダーゼ阻害薬とインクレチン

α グルコシダーゼ阻害薬 (α -GI) 投与によって、GIP の分泌は低下し、GLP-1 の分泌は亢進する。これは、炭水化物の吸収様式に合致する。

(4) まとめ

インクレチンは膵作用においてはいずれもインスリン分泌促進であるが、膵外作用では GIP は脂肪細胞への作用から体重を増加させ GLP-1 は中枢神経系などへの作用から体重減少を来し、まったく逆に働く。したがって、GLP-1 シグナルのみを活性化する GLP-1 受容体作動薬、GIP と GLP-1 のいずれのシグナル

を活性化する DPP-IV 阻害薬に加え、GIP シグナルを抑制し GLP-1 シグナルを活性化する α グルコシダーゼ阻害薬は、いずれもインクレチン薬であり、2 型糖尿病のインスリン分泌障害やインスリン抵抗性を考慮した治療薬の選択が必要であることを明らかにしている。

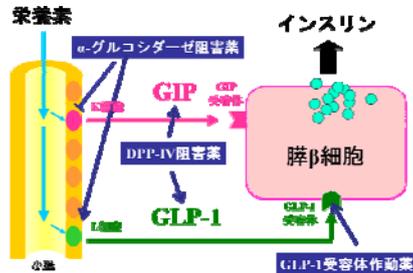


図3 インクレチン薬

消化管から分泌された GIP と GLP-1 は膵 β 細胞で協調してインスリン分泌を促進する。これらのシグナルを調節するインクレチン薬が開発されている。

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 18 件)

(1) Narita T, Katsuura Y, Sato T, Hosoba M, Fujita H, Morii T, Yamada Y: Miglitol induces prolonged and enhanced glucagon-like peptide-1 and reduced gastric inhibitory polypeptide responses after ingestion of a mixed meal in Japanese type 2 diabetic patients. *Diabet Med* 26(2):187-8, 2009. 査読あり

(2) Naitoh R, Miyawaki K, Harada N, Mizunoya W, Toyoda K, Fushiki T, Yamada Y, Seino Y, Inagaki N: Inhibition of GIP signaling modulates adiponectin levels under high-fat diet in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 376(1):21-5, 2008. 査読あり

(3) Yamada C, Yamada Y, Tsukiyama K, Yamada K, Udagawa N, Takahashi N, Tanaka K, Drucker DJ, Seino Y, Inagaki N: The murine glucagon-like peptide-1 receptor is essential for control of bone resorption. *Endocrinology* 149(2):574-9, 2008. 査読あり

(4) Sassa M, Yamada Y, Hosokawa M, Fukuda K, Fujimoto S, Toyoda K, Tsukiyama K, Seino Y, Inagaki N: Glycemic instability in type 1 diabetic patients: Possible role of ketosis or ketoacidosis at onset of diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 81(2):190-5, 2008. 査読あり

(5) Watanabe R, Shen ZP, Tsuda K, Yamada Y:

Insulin gene is a target in activin receptor-like kinase 7 signaling pathway in pancreatic beta-cells. *Biochem Biophys Res Commun* 377(3):867-72, 2008. 査読あり

(6) Harada N, Yamada Y, Tsukiyama K, Yamada C, Nakamura Y, Mukai E, Hamasaki A, Liu X, Yamada K, Sasaki M, Toyoda K, Seino Y, Inagaki N: A novel gastric inhibitory polypeptide (GIP) receptor splice variant influences GIP sensitivity of pancreatic β -cells in obese mice. *Am J Physiology Endocrinol Metab* 294(1):E61-8, 2008. 査読あり

(7) Yamada C, Tsukiyama K, Yamada K, Yamane S, Harada N, Miyawaki K, Seino Y, Inagaki N, Yamada Y: Genetic inactivation of GIP signaling reverses aging-associated insulin resistance through body composition changes. *Biochem Biophys Res Commun* 364(1):175-80, 2007. 査読あり

(8) Fujita H, Koshimura J, Sato T, Miura T, Sasaki H, Morii T, Narita T, Kakei M, Ito S, Yamada Y: Effects of long-term pravastatin treatment on serum and urinary monocyte chemoattractant protein-1 levels and renal function in type 2 diabetic patients with normoalbuminuria. *Ren Fail* 29(7):791-6, 2007. 査読あり

(9) Fujita H, Kakei M, Fujishima H, Morii T, Yamada Y, Qi Z, Breyer MD: Effect of selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitor treatment on glucose-stimulated insulin secretion in C57BL/6 mice. *Biochem Biophys Res Commun* 363(1):37-43, 2007. 査読あり

(10) Ikeda H, Yong Q, Kurose T, Todo T, Mizunoya W, Fushiki T, Seino Y, Yamada Y: Clock Gene Defect Disrupts Light-Dependency of Autonomic Nerve Activity. *Biochem Biophys Res Commun* 364(3):457-63, 2007. 査読あり

[学会発表] (計 6 件)

(1) Narita T: α -glucosidase inhibitor (miglitol) induces prolonged and enhanced GLP-1 and reduced GIP responses after ingestion of mixed meals in Japanese type-2 diabetic patients. 68th Scientific Sessions American Diabetes Association 2008 年 6 月 8 日米国サンフランシスコ

(2) 山田千積: GIP シグナルの遮断は加齢に伴う耐糖能障害を改善する第 50 回日本糖尿病学会年次学術集会 2008 年 5 月 26 日仙台

(3) 山田耕太郎: 消化管ホルモン GIP による肝臓の糖代謝調節機構の検討第 50 回日本糖尿病学会年次学術集会 2008 年 5 月 26 日仙台

(4) 山田麻里子: インスリン分泌指標 SUIT は

インスリン治療必要性の鑑別に有用である
第 50 回日本糖尿病学会年次学術集会 2008 年
5 月 26 日仙台

[その他]

<http://www.med.akita-u.ac.jp/~rounen/achievement.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山田 祐一郎 (YAMADA YUICHIRO)

秋田大学・医学部・教授

研究者番号：60283610

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

成田 琢磨 (NARITA TAKUMA)

秋田大学・医学部・准教授

研究者番号：70282168