

研究種目：若手研究（スタートアップ）

研究期間：2007～2008

課題番号：19890202

研究課題名（和文） 時計遺伝子に着目したインスリン抵抗性発症の機序解明

研究課題名（英文） Elucidation of the mechanism of insulin resistance based on clock genes

研究代表者

牛島 健太郎 (Ushijima Kentarou)

自治医科大学・医学部・助教

研究者番号：70448843

研究成果の概要：

反復ストレス刺激を負荷したマウスでは、末梢臓器における時計遺伝子発現が低下し、耐糖能異常を認めた。これより、時計遺伝子発現リズムの破綻が耐糖能異常を惹起する可能性がある。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,100,000	0	1,100,000
2008年度	1,260,000	378,000	1,638,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,360,000	378,000	2,738,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：生理学一般

キーワード：生体リズム、遺伝子発現リズム、高カロリー食、外的ストレス

1. 研究開始当初の背景

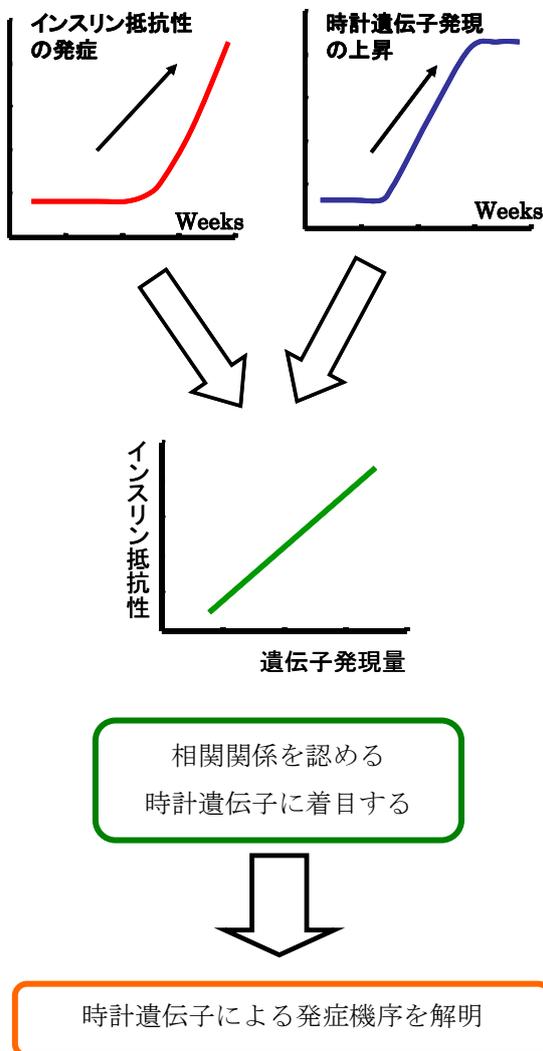
糖尿病モデルマウスの末梢組織において、時計遺伝子発現リズムが変容していることが報告され、生活習慣病発症における時計遺伝子の関与が注目された。また、時計遺伝子の1つ、*Clock* の変異マウスが肥満や高血糖を呈することが報告され、生活習慣病発症における時計遺伝子の機能解析が急速に行われた。

さらに、時計遺伝子 *Bmal1* に関しては、脂肪細胞の分化誘導に必須であることや、plasminogen-activator inhibitor 1 (*PAI-1*) 遺伝子発現のリズム形成に重要であること

が報告されるなど、興味深い知見が近年得られている。このように、時計遺伝子は体内時計の振動子だけでなく、生体内ホメオスタシス維持に重要な因子であることが明らかとされてきた。

2. 研究の目的

本研究では、インスリン抵抗性発症における時計遺伝子の機能を明らかにすることを目的とした。高カロリー食負荷開始直後から連続して生体内の遺伝子発現プロファイルを観察し、インスリン抵抗性発症に影響しうる時計遺伝子を選び出す、その時計遺伝子が IRS-1 などのインスリンシグナル関連遺伝子、種々のアディポサイトカイン遺伝子の転写活性を直接制御するか否か明らかとする。



3. 研究の方法

2007年度では、正常マウスに高カロリー食を給餌し、高血糖・高インスリン血症を呈するモデルを作成した。その際、インスリン負荷テストにおける血糖値変動を数週間毎に確認し、インスリン抵抗性がいつ惹起されるのか、長期間にわたり検討を行った。

また同時に、正常マウスに高カロリー食を給餌し、数週間毎に末梢組織を採取し、Real-time PCR 法により時計遺伝子発現量を測定した。体内時計システムを形成する時計遺伝子は13種類報告されており、発現リズムからそれぞれ“朝遺伝子”、“昼遺伝子”、“夜遺伝子”に分類されている。糖尿病モデルマウスの脂肪組織では、時計遺伝子のうち特に“朝遺伝子”の発現リズムに異常が認められている。したがって本検討ではまず、朝遺伝子の発現量が減少する夕方に焦点を絞り、この時間帯に各組織を採取した。

2008年度では、外的要因により体内時計を破綻させることを目的として、ストレス負荷によりインスリン抵抗性が惹起されるか否か検討した。マウスに強制水泳ストレスを7日間負荷し、その翌日にインスリン抵抗性試験および経口ブドウ糖負荷試験を行った。また、肝臓を含めた末梢臓器における時計遺伝子発現リズムを、Real-time PCR 法により測定した。

4. 研究成果

本研究では、摂食のパターンの日内リズムが変化しないように、既報で使用されている脂肪含量(40-60%)よりも低濃度(28%)に設定して飼料を作成した。高脂肪食を摂食させると経時的に血糖値とインスリン値の上昇は認められた。しかしながら、朝型時計遺伝子の発現量に著明な変化は認められず、インスリン抵抗性発症に関する時計遺伝子は同定できなかった。本研究では特定の時刻における遺伝子発現量を測定したため、時計遺伝子の発現リズムが変容しているか否かは検討していない。さらに朝型時計遺伝子だけでなく、昼型、夜型の時計遺伝子も含めた網羅的かつ発現リズムに着目した解析が必要であると考えられた。

外的ストレス刺激を7日間行ったマウスは経口ブドウ糖負荷試験において耐糖能異常を呈した。しかしながらインスリン抵抗性試験では陰性であった。末梢臓器における時計遺伝子発現リズムを測定したところ、朝型時計遺伝子の1つである *per2* 遺伝子の発現量が低下し、リズム振幅の減少が認められた。各時計遺伝子は転写調節因子であり、様々な遺伝子の発現をリズムカルに制御している。本研究において外的ストレス負荷により *per2* 遺伝子発現の変化が認められた。今後この遺伝子を含めた体内時計システムがどのような機序で耐糖能を制御しているか、詳細に検討する必要があると考えられた。

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 0件)

[学会発表] (計 0件)

[図書] (計 0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

牛島 健太郎 (Ushijima Kentarou)

自治医科大学・医学部・助教

研究者番号：70448843

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者