

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 5 月 31 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09015

研究課題名(和文)臓器間ネットワークによる肝糖新生制御機構の解明

研究課題名(英文)The role of hepatic gluconeogenesis in systemic metabolism

研究代表者

金子 慶三 (Kaneko, Keizo)

東北大学・大学病院・講師

研究者番号：60546141

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：糖新生は肝臓や腎臓で行われ、主に肝臓が主要な役割を担うと考えられている。また、グリセロールを器質とする糖新生経路であるグリセロールキナーゼ(Gyk)経路は絶食や肥満糖尿病で重要であることが報告されている。本研究では肝臓特異的にGykを欠損させたマウスを作製し、肝Gyk経路が絶食時の血糖維持や肥満形成時の血糖上昇にどのように関与するかについて研究をすすめたが、肝Gyk経路の遮断単独では血糖の変化を認めなかった。そこで、肝腎両臓器のGykが欠損したマウスを作製したところ、グリセロールからの糖産生がほとんど行われず、Gyk経路の研究のためには肝腎両者へのアプローチが必要であることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

研究開始初期においては、糖新生の中で重要な経路の1つのGyk経路の全身代謝における役割を肝臓へのアプローチで解明することを目指していた。しかし、研究をすすめるうちに肝以外の腎の糖新生へのアプローチも必要であることが分かり、このことは1つの成果であると考えている。今回の研究データの上に肝腎2つの糖新生臓器のGyk経路への介入実験を積み重ねていくことで、糖新生Gyk経路による個体レベルでの代謝制御を探究し、血糖恒常性の維持の解明や肥満糖尿病への新規アプローチへとつなげていく予定である。

研究成果の概要(英文)：Gluconeogenesis is performed by the liver and kidneys. Hepatic gluconeogenesis is considered to be a main contributor to systemic glucose production. The gluconeogenic pathway initiated from glycerol, using glycerol kinase (Gyk), is reported to be important during fasting state and in diabetes. Our research is aimed at investigating how the Gyk gluconeogenic pathway in the liver is involved in the systemic glucose homeostasis, using the liver-specific Gyk knockout (KO) mouse. The results so far showed no strong phenotypes of glucose homeostasis in the liver-specific GykKO mouse (L-GykKO) during fasting and obesity development. We thus created the mice with Gyk deletion both in the liver and kidneys (LK-GykKO). Very little glucose was produced from glycerol in LK-GykKO, compared to L-GykKO. This result indicated that the intervention of Gyk pathways in both liver and kidneys is important to clarify the role of Gyk pathway in the systemic glucose homeostasis.

研究分野：糖代謝

キーワード：糖新生

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

糖新生は血中のグルコース濃度を維持するためにグリコーゲン分解とともに重要な生体の営みであり、そこには筋肉や脂肪由来のアミノ酸や乳酸、グリセロールといった様々な器質を出発点としてグルコースを産生する複数の経路が存在する。糖新生は肝細胞の他に腎臓の近位尿細管で行われることが報告されているが、肝臓が主に全身の糖産生を担っていると考えられている。グリセロールを器質とする糖新生経路の律速酵素の1つにグリセロールキナーゼ(以下 Gyk)があるが、Gyk 経路は絶食や肥満糖尿病において糖産生におけるその重要度が増すことが他施設の放射性同位体を用いた研究で報告されている(Yujue Wang, et al Mol Metab, 2020)(Nurjhan N, et al J Clin Invest. 1992)。しかし、肝 Gyk 経路が直接糖産生にどのように関与するかについての分子生物学的メカニズムは未だ明らかにされていない。Gyk 遺伝子を全身で欠損させたマウスは生後まもなくして死亡することが知られており、肝臓 Gyk を組織特異的に欠損すれば成体まで飼育することが可能で、肝 Gyk が絶食時の血糖維持や肥満糖尿病時の血糖上昇へ寄与するメカニズムについて検証できると考えた。

2. 研究の目的

研究の目的は、肝 Gyk が絶食時の血糖維持や肥満糖尿病における血糖上昇にどのように関与するかについて調べることである。これにより、血糖恒常性維持のメカニズムの一端を明らかにし、肥満糖尿病の新しい治療へのアプローチへつながる可能性がある。

3. 研究の方法

(1) 絶食や肥満糖尿病における肝 Gyk レベルや Gyk 経路活性の確認

C57BL/6 マウスを24時間絶食させ、血糖とともに、肝 Gyk の発現が遺伝子やタンパク、活性レベルでどのように変化するかを解析する。

C57BL/6 マウスに通常食もしくは高脂肪食を食べさせ、肝 Gyk の発現が遺伝子やタンパク、活性レベルでどのように変化するかを解析する。

(2) 肝臓特異的 Gyk 欠損マウス(以下肝 Gyk 欠損マウス)の作製

タモキシフェン投与により肝特異的に Cre が誘導される SA-CreER マウスと Gyk の flox/flox マウスの交配により肝 Gyk 欠損マウスを作製し、肝臓のみでの Gyk 欠損を確認する。

(3) 肝 Gyk 欠損マウスを絶食させるもしくは肥満を誘発させることによる表現型の解析

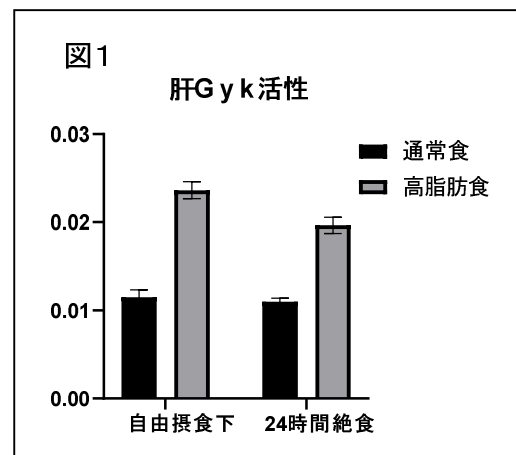
肝 Gyk 欠損マウスを24時間絶食させ対照マウスとの比較で体重や血糖、インスリンなどのパラメータを解析する。

肝 Gyk 欠損マウスに高脂肪食を与え、対照マウスとの比較で体重や血糖、インスリンなどのパラメータを解析する。

4. 研究成果

図1に示すように、C57BL/6 は高脂肪食を負荷すると通常食に比べて Gyk 活性が上昇するという結果が得られたが、24時間絶食させても自由摂食下より Gyk 活性が上昇しなかった。これらは絶食と高脂肪食負荷の間で Gyk 活性レベルの反応性に違いがあることを示している。

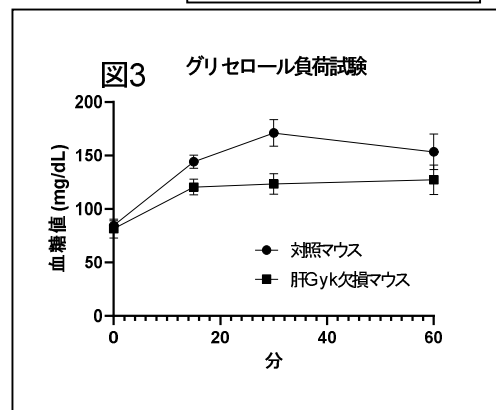
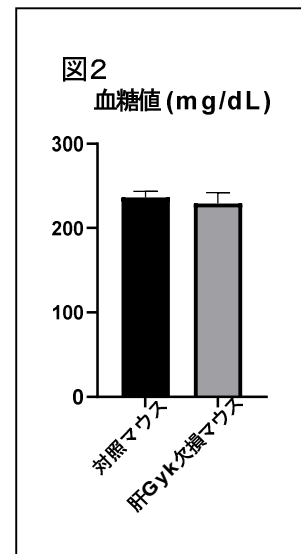
また、研究開始後の早い段階において肝 Gyk 欠損マウスを作製し肝での Gyk 欠損も確認でき、繁殖もスムーズで研究期間中にマウスの供給に関しては特に問題となることはなかった。



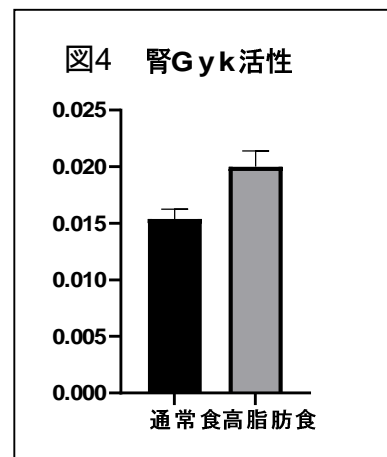
次に肝 Gyk 欠損マウスを 24 時間絶食させ対照マウスと比較したところ血糖には変化がないという結果がえられた。

今度は肝 Gyk 欠損マウスに2ヶ月間高脂肪食を負荷したところ、Gyk が欠損していない対照マウスと比較して血糖値に有意な差を認めなかった(図2)。このことから高脂肪食負荷時の肝 Gyk の活性上昇は肥満形成時の高血糖へ大きく寄与していない可能が示唆された。

「研究開始当初の背景」で記述したごとく、当初は肝 Gyk 経路単独が絶食や肥満に伴う血糖値制御に強く関与していると予想していたが、肝 Gyk 欠損マウスを用いた検討ではその仮説を支持する結果は得られなかった。理由として、生理的な絶食条件ではアミノ酸や乳酸などの他の糖新生器質を介する経路や腎糖新生が肝 Gyk 経路の不活性化を補っていることが考えられた。更なる検証のためグリセロールを肝 Gyk 欠損マウスへ投与したところ、血糖上昇は対照マウスに比べて抑えられていたが、完全には抑制されなかった(図3)。この実験におけるグリセロール投与量は非生理的で、量的効果により全身代謝が攪乱されうるため、その評価は慎重に行うべきである。しかし、この結果から、グリセロールを基質とする糖新生の個体レベルの解析のためには、肝臓のみならず腎における糖新生も考慮にいれる必要があることを示唆していると考えた。近年、長期絶食では腎臓の糖新生が肝臓に比べて全身の糖産生へ寄与する割合が増えることが示されており、また、肥満糖尿病の血糖上昇に腎糖新生の上昇が重要であることを示した報告もある。そこで、腎臓で Gyk を欠損させるマウスの作製を開始し、研究期間内に肝腎両臓器で Gyk が欠損したマウスを得ることができた。このマウスを 24 時間絶食させたところ、まだプレリミナリーながら、Gyk 欠損のない対照マウスに比べて血糖は低い傾向にあり、グリセロール負荷後の血糖がほとんど上昇しないという結果を得た。さらに、高脂肪食を負荷した



C57BL/6 マウスの腎臓の Gyk 活性を調べたところ、肝臓と同様に普通食のマウスより上昇していることも分かった(図4)。これらの結果より、Gyk 経路による糖新生は肝のみならず腎においても重要であると考え、現在、肝腎両臓器で Gyk を欠損させたマウスを量産すべく準備をすすめていることである。



以上のように研究開始初期においては、糖新生の中で重要な経路の1つのGyk経路の全身代謝における役割を肝臓へのアプローチで解明することを目指していた。しかし、研究をすすめるうちに肝以外の腎の糖新生へのアプローチも必要であることが分かり、軌道修正をおこなった。今回の研究データの上に肝腎両方のGyk経路への介入実験を積み重ねていくことで、糖新生Gyk経路による個体レベルでの代謝制御を更に探究し、将来的には血糖恒常性の維持の解明や肥満糖尿病への新規アプローチへとつなげていく予定である。

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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------