

平成 22 年 6 月 7 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008 ~ 2009

課題番号：20790639

研究課題名 (和文) TCF7L2 遺伝子による 2 型糖尿病発症機序の解明

研究課題名 (英文) Investigation of the mechanism by which TCF7L2 gene develops Type 2 diabetes

研究代表者

堀越 桃子 (HORIKOSHI MOMOKO)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：70422400

研究成果の概要 (和文) : 2 型糖尿病の主要な原因遺伝子の 1 つとして同定されている TCF7L2 遺伝子の *in vivo* における糖代謝との関連に注目した検討を Tcf7l2 の機能を膵β細胞で低下させたモデル動物とヒトにおいて解析した。TCF7L2 の機能低下型マウスでは野生型に比べて、糖負荷試験におけるインスリン分泌の低下と高血糖を示された。またヒトにおいては糖尿病リスクアレルをホモに持つヒトで、90 分血糖値が有意に上昇、120 分インスリン値が有意に低下しており、膵β細胞における TCF7L2 の機能低下はインスリン分泌低下による耐糖能異常を惹起したことが示された。

研究成果の概要 (英文) : TCF7L2 gene is widely accepted as a type 2 diabetes (T2D)-associated gene, the mechanism through which, however, is not well known. Thus we investigated its correlation with glucose metabolism by generating a *TCF7L2* knock-down mouse with decreased function of *TCF7L2* in the pancreatic beta cell. Glucose level of the *TCF7L2* knock-down mouse during oral glucose tolerance test (OGTT) was significantly higher compared to the wild type mouse, and its insulin level was lower. Likewise, in human subjects who were homozygous for the T2D risk allele of *TCF7L2*rs7903146, the glucose levels at 90 min were significantly higher and the insulin levels at 120 min were significantly lower compared to the subjects with no risk allele during 75gOGTT. In conclusion, we demonstrated that the decrease of *TCF7L2* function in the pancreatic beta cell will cause glucose intolerance through decreased insulin secretion.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：2 型糖尿病、遺伝子、インスリン分泌

様式 C-19

科学研究費補助金研究成果報告書

1. 研究開始当初の背景

Tcf7l2 は 2 型糖尿病の主要な原因遺伝子の 1 つとして同定され、その結果は日本人においても追試されているが、in vivo における糖代謝との関連に注目した検討は皆無であり、その糖尿病発症の機序は不明である。

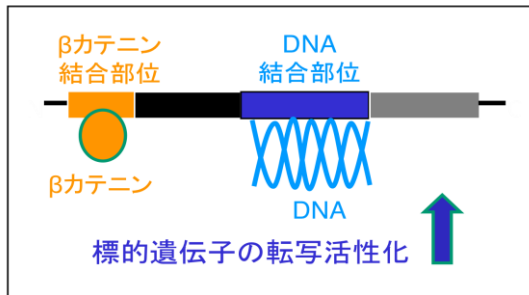
2. 研究の目的

そこで Tcf7l2 の機能を膵β細胞で低下させたモデル動物を作成し、その表現型を解析した。またヒトにおける糖代謝指標と Tcf7l2 遺伝子型との関係についても検討した。

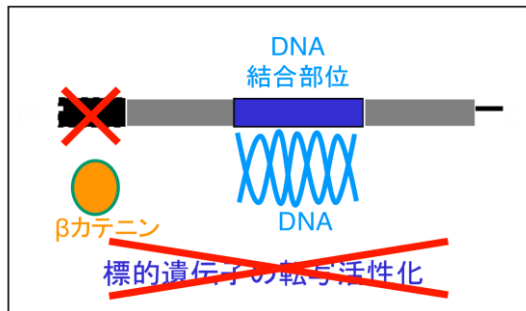
3. 研究の方法

xx [マウス] Tcf7l2 の dominant negative 型変異 (DN-Tcf) を RIP プロモーター (Rat Insulin Promoter) の下流につなぐコンストラクトを構築しトランスジェニックマウス (RIP-DNTcf-Tg) を作成した。

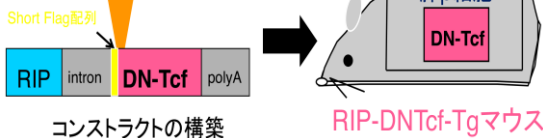
通常のTcf7l2(活性型)



dominant negative型Tcf7l2



βカテニン結合部位をコードする exon1 の ATG 直下の 93 塩基を欠失させ short Flag 配列を挿入

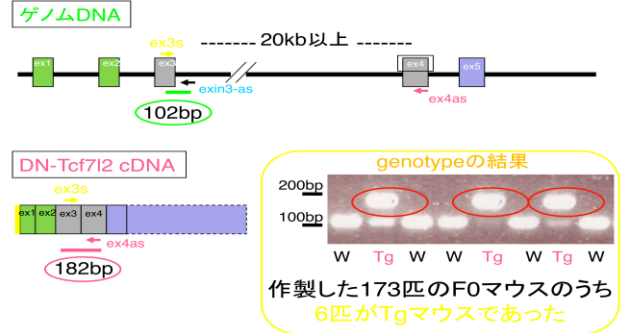


[ヒト] 54 人の糖負荷試験施行者において TCF7L2 遺伝子型と血糖・インスリン値との関連を検討した。

4. 研究成果

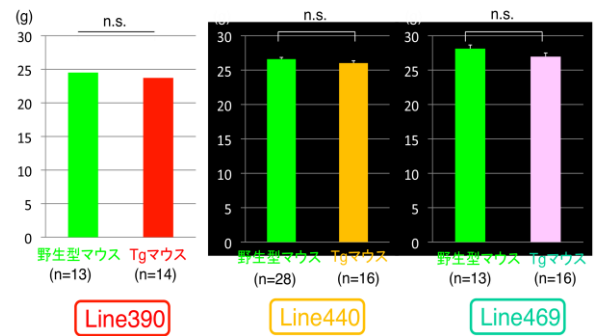
genotype PCR により 173 匹の founder から 6 匹のトランスジェニックマウスを選定し、各々で transgene の germline transmission を確認した。

exon3-4に注目したPCRによるGenotype法

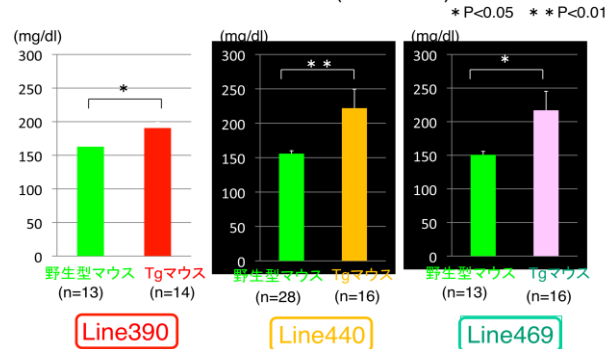


このうち DN-Tcf の発現量が内因性の Tcf7l2 の発現量の 10 倍以上と推定される独立した 3 つのラインの検討より、RIP-DNTcf-Tg 群は野生型 (Wt) 群と比較して体重は同程度であったが、随時血糖値は高値を示した。

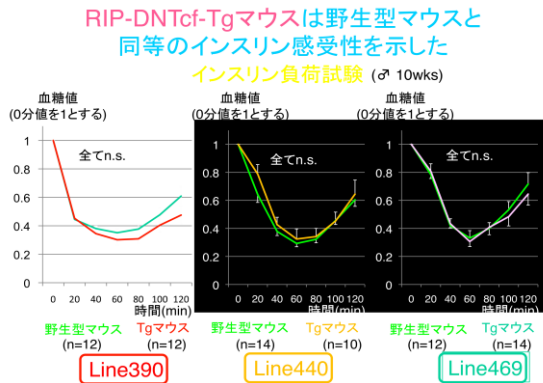
RIP-DNTcf-Tgマウスの体重は野生型マウスと同等であった



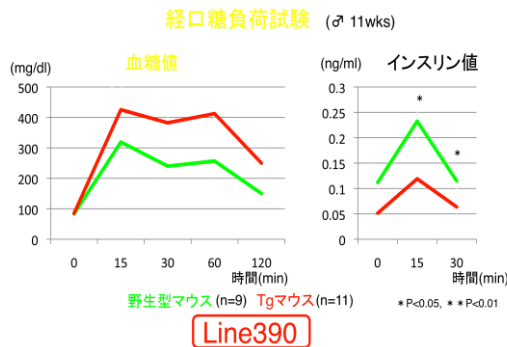
RIP-DNTcf-Tgマウスの随時血糖値は野生型マウスと比較して高値であった



またインスリン感受性は同程度であったが、経口糖負荷試験では RIP-DNTcf-Tg 群は Wt 群と比較して、糖負荷後 15 分と 30 分の血中インスリン値が低下しており、明確な高血糖を呈した。

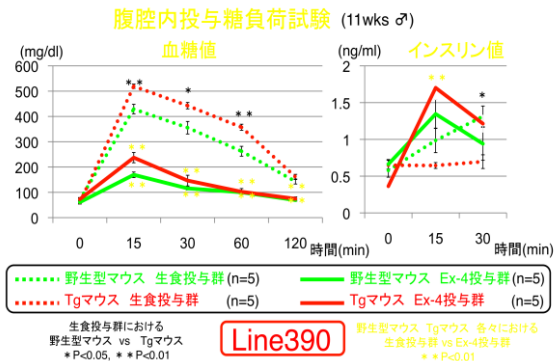


RIP-DNTcf-Tgマウス(Line 390)は経口糖負荷試験にてインスリン分泌低下を伴う耐糖能異常を呈した



RIP-DNTcf-Tg 群はインスリン分泌低下を伴う台糖能異常を呈していたが、外来性のインクレチン作用は保たれていた。

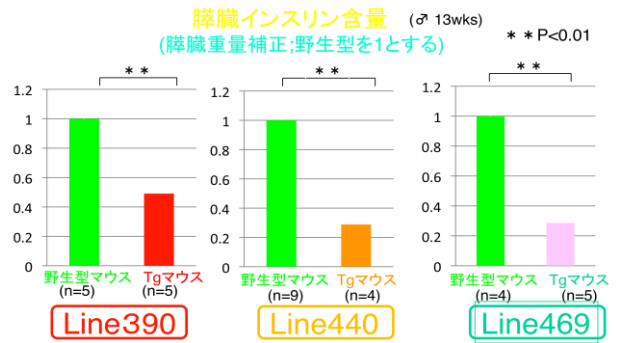
RIP-DNTcf-Tgマウス(Line 390)は腹腔内投与と糖負荷試験にてインスリン分泌低下を伴う耐糖能異常を呈したが、Exendin-4(24nmol/kg)の反応性は良好であった



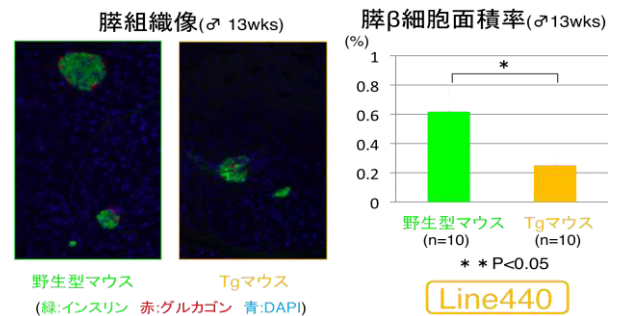
RIP-DNTcf-Tg 群の膵臓における膵β細胞量およびインスリン含量を検討したところ、インスリン含量および膵β細胞量ともに野生型マウスに比して有意に低下していたが、単利膵島実験でのグルコース応答性インスリ

ン分泌率は良好であった。

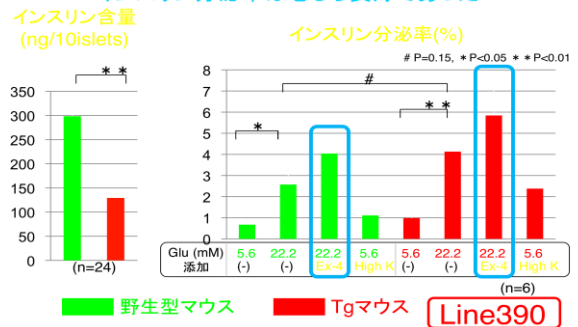
RIP-DNTcf-Tgマウスは膵臓のインスリン含量が減少していた



RIP-DNTcf-Tgマウス(Line 440)は膵β細胞量が減少していた



RIP-DNTcf-Tgマウス(Line 390)の単離膵島ではインスリン含量で補正したグルコース応答性インスリン分泌率はむしろ良好であった



またヒトにおいては糖尿病リスクアイルをホモに持つヒトで、90分血糖値が有意に上昇、120分インスリン値が有意に低下していた。

以上より、膵β細胞における Tcf712 の機能低下は膵β細胞量の制御を介してインスリン分泌低下による耐糖能異常の惹起に重要な役割を果たしていることが示された。

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0件)

[学会発表] (計4件)

1) 第52回日本糖尿病学会年次学術集会 2009.5.23 (大阪)

高本偉碩; 膵β細胞に dominant negative 型 Tcf712 を過剰発現させたマウスは耐糖能異常を呈する

2) 第59回日本体質医学会総会 2009.7.26 (東京)

高本偉碩; 膵β細胞に dominant negative 型 Tcf712 を過剰発現させたマウスは耐糖能異常を呈する

3) 第24回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会 2010.1.22 (大阪)

高本偉碩; 膵β細胞の Tcf712 は膵β細胞量維持に重要な役割を果たしている

4) 第83回日本内分泌学会学術総会 2010.3.26 (京都)

高本偉碩; 膵β細胞の Tcf712 は膵β細胞量維持に重要な役割を果たしている

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他] なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

堀越 桃子 (HORIKOSHI MOMOKO)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号: 70422400

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし

(4) 研究協力者

高本 偉碩 (TAKAMOTO ISEKI)

東京大学・医学部附属病院