

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月21日現在

機関番号：32669

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21380195

研究課題名（和文） インスリンシグナリング遺伝子を用いた犬猫の肥満・糖尿病の早期診断法の開発

研究課題名（英文） Development of early diagnosis for obesity and diabetes using insulin signaling gene expressions in dogs and cats

研究代表者

新井 敏郎（ARAI TOSHIRO）

日本獣医生命科学大学・獣医学部・教授

研究者番号：70184257

研究成果の概要（和文）：犬や猫で近年著しく発生が増えている肥満・糖尿病の早期診断法の開発を試みた。インスリンシグナル伝達に関与する遺伝子（IRS-1, IRS-2, PI3K）は肥満早期から発現が低下した。血中コレステロール分画やアディポネクチンレセプター発現量も肥満、糖尿病発症に伴い有意に変動した。インスリンシグナリング遺伝子、コレステロール分画、アディポネクチンおよびそのレセプター量は犬や猫の肥満、糖尿病の早期診断マーカーとして有用であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Early diagnostic method for obesity and diabetes mellitus using insulin signaling gene was investigated in dogs and cats. Expression of insulin signaling genes, insulin receptor substrate (IRS)-1, -2 and phosphatidylinositol kinase (PI3K), decreased significantly at the early stage of obesity in dogs and cats. Changes in plasma cholesterol profiles and adiponectin concentrations and peripheral leukocytes adiponectin receptor (ADIPOR) gene expression were also significant in obese and diabetic animals. IRS-2, PI3K and ADIPOR mRNA expression and plasma cholesterol profiles and adiponectin concentrations appeared to be potential diagnostic markers for obesity and diabetes in dogs and cats.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	7,900,000	2,370,000	10,270,000
2010年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2011年度	2,900,000	870,000	3,770,000
年度			
年度			
総計	13,700,000	4,110,000	17,810,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学、臨床獣医学

キーワード：動物・肥満・糖尿病・遺伝子・インスリン・早期診断

1. 研究開始当初の背景

(1) 犬や猫でも人と同様に肥満やそれに続く糖尿病の発症が目立って増えている。これらの疾病はインスリンシグナル伝達の異常とも考えることができる。

(2) 犬や猫でインスリンシグナル伝達に関与する遺伝子（インスリンシグナル遺伝子）の解析はあまり行われていないが、人やマウスではインスリンシグナリング遺伝子の早期診断マーカーとしての有用性が明らかに

されている。

2. 研究の目的

(1) 犬と猫のインスリン感受性組織でインスリンシグナリング遺伝子の発現を比較する。

(2) 肥満、糖尿病の犬や猫でインスリンシグナリング遺伝子発現の変動を調べ、その早期診断マーカーとしての有用性を検討する。

(3) インスリンシグナリングに関連する他の血液生化学マーカー（メタボロミクスマーカー）の変動を測定し、その診断マーカーとしての有用性を検討する。

(4) 肥満や糖尿病時に変化し、インスリン抵抗性を軽減するとされるアディポネクチンの血漿濃度およびそのレセプター発現を末梢白血球で測定する。

3. 研究の方法

(1) 健康犬および猫の血液を1晩絶食後に採取し、血漿分離し、さらに白血球からmRNAを抽出する。本研究に使用した犬および猫は開業獣医師の元に健康診断等で来院した動物である。診察時に体重、体脂肪率、ボディコンディションスコア(BCS)の測定を行った。サンプルの研究への使用については飼い主の同意を得た。

(2) 肥満および糖尿病犬および猫から(1)と同様に血液サンプルを採取する。

(3) 高脂肪食給与(6週間)により実験的に猫に肥満を誘発した。肥満した動物から血液および組織サンプルを採取した。

(4) 上記(1)~(3)で得たサンプルを用い、血液生化学(血糖、トリグリセリド、コレステロール、NEFA、酵素など)検査を行い、ホルモン(インスリン、アディポネクチン)濃度およびコレステロール電気泳動分画を測定した。また、インスリンシグナリング遺伝子(IRS-1, IRS-2, PI3K)およびアディポネクチンレセプター(ADIPOR)mRNA発現量を定量的RT-PCR法により測定した。

4. 研究成果

(1) 健康動物間の比較では、猫の血漿アディポネクチン濃度は犬に比べ有意に低く、インスリン濃度は高かった。また、犬、猫ともにHDLコレステロールが優勢である電気泳動パターンを示した。

(2) 肥満すると犬、猫ともにアディポネクチン濃度が有意に低下し、インスリン濃度は上昇したが、遊離脂肪酸(NEFA)濃度の増加が猫では有意で、猫は犬に比べインスリン抵抗性に陥りやすいことが示唆された。また、肥満すると猫ではLDLコレステロール分画が有意に増加した。肥満した犬ではLDLの上昇は特に認められないが、HDL2/3の比率が上昇するパターンを示した(Fig. 1)。

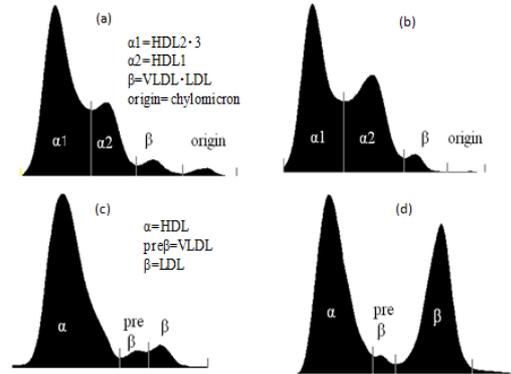


Fig. 1 犬と猫のコレステロール分画
(a) control dog (b) obese dog
(c) control cat (d) obese cat

(3) 猫のインスリン感受性組織ではIRS-2およびPI3KmRNA発現量が犬に比べ低かった。アディポネクチン濃度の低いこととともに猫がインスリン抵抗性に陥りやすい動物であることを示唆する結果であった。

(4) 肥満した猫のインスリン感受性組織(肝、骨格筋、脂肪組織、白血球)において、IRS-2およびPI3KmRNA発現量は低下する傾向が見られ、IRS-2の発現低下は肝、骨格筋、白血球で有意であった(Fig. 2)。

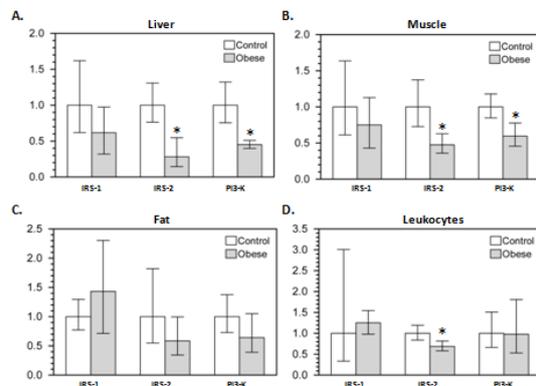


Fig. 2 肥満猫におけるインスリンシグナリング遺伝子mRNA発現量の変化

(5) 特に猫において、肥満早期からインスリンシグナリング遺伝子mRNAの発現低下は顕

著であり、また、血漿アディポネクチン濃度の低下、LDL コレステロールの上昇が有意であったことから、これらのマーカーは、早期の肥満診断マーカーとして有用であると考えられた。犬では肥満、糖尿病でアディポネクチン濃度の低下、ADIPOR1 と ADIPOR2 の発現比が変化することから、これらの診断マーカーとしての応用が期待された。

(6) インスリン、アディポネクチン濃度の変化に伴い、血中のグルコース代謝産物濃度が変動することが確認できた。メタボロミクスの手法を使ってこれら代謝産物を網羅的に解析すること(グルコース・メタボロミクス)が肥満、糖尿病の早期診断に有用であると思われる、インスリンシグナリング遺伝子とグルコース・メタボロミクスを組み合わせることにより新たな診断マーカーの開発が期待できる。

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 16 件)

- ① Katayama K, Sato T, Arai T, Amao H, Ohta Y, Ozawa T, Kenyon PR, Tazaki H, Non-targeted analyses of animal plasma: betaine and choline represent the nutritional and metabolic status. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 査読有, 2012.
DOI: 10.1111/j.1439-0396.2011.01250.x
- ② Takemitsu H, Yamamoto I, Lee P, Ohta T, Mori N, Arai T, cDNA cloning and mRNA expression of canine pancreatic and duodenum homeobox 1 (Pdx-1). *Research in Veterinary Science* 査読有, 2012.
DOI: 10.1016/j.rvsc.2011.11.003
- ③ Mori N, Kawasumi K, Arai T, Comparison of the plasma insulin and adiponectin concentrations as metabolic markers in clinically healthy dogs with ageing. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 査読有, 11(7), 2012, 971-974.
DOI: 10.3923/java.2012.971.974
- ④ Mori N, Lee P, Yamamoto I, Arai T, Elevated plasma adiponectin level and peripheral blood leukocyte adiponectin receptor expression in dogs suffering from insulin deficiency. *The Open Veterinary Science Journal* 査読有, 6, 2012, 1-7.
DOI: 10.2174/1874318801206010001
- ⑤ Mori N, Kawasumi K, Suzuki T, Yamamoto I, Kobayashi M, Arai T, Establishment of temporary criteria for metabolic syndrome (MS) diagnosis and assessment of the occurrence rate of MS in cats. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 査読有, 11(5), 2012, 615-617.
DOI: 10.3923/java.2012.615.617
- ⑥ Lee P, Mori A, Takemitsu H, Yamamoto I, Arai T, Lipogenic gene expression in abdominal adipose and liver tissues of diet-induced overweight cats. *The Veterinary Journal* 査読有, 190, 2011, e150-e153.
DOI: 10.1016/j.tvjl.2011.04.003
- ⑦ Haruo Hashimoto, Study on establishment of congenic strains and screening of characteristics in IRS-2 deficient mice to support translational research on type 2 diabetes. *Experimental Animal* 査読有, 60(1), 2011, 21-32. URL: https://www.jstage.jst.go.jp/article/expanim/60/1/60_1_1/_pdf
- ⑧ 酒井美帆、森伸子、山本一郎、川角浩、新井敏郎、高脂肪食給与により肥満なせた犬の白血球中のインスリン感受性に関連する遺伝子発現量の変化、*予防動物医学*、査読有、3 巻 1 号、2011、11-19.
URL: <https://www.jspvm.com>
- ⑨ Yamamoto I, Nakao N, Kaiya H, Miyazato M, Tsushima N, Arai T, Tanaka M, Two chicken neuromedin U receptors: Characterization of primary structure, biological activity and tissue distribution. *General and Comparative Endocrinology* 査読有, 174, 2011, 116-123.
DOI: 10.1016/j.ygcen.2011.08.004
- ⑩ Miki Y, Mori A, Hayakawa N, Niki T, Oda H, Saeki K, Sato T, Tazaki H, Ishioka K, Arai T, Sako T, Evaluation of serum and urine 1,5-anhydro-D-glucitol and myo-inositol concentrations in healthy dogs. *Journal of Veterinary Medical Science* 査読有, 73, 2011, 1117-1126.
URL: https://www.jstage.jst.go.jp/article/jvms/73/9/73_10_0372/_pdf
- ⑪ Mori N, Lee P, Yamamoto I, Nozawa S, Arai T, Insulin treatment-induced daily changes to plasma adiponectin and TNF- α level and lipid metabolism parameters in dogs suffering from type 1 diabetes mellitus. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances* 査読有, 6, 2011, 844-850.
DOI: 10.3923/ajava.2011.844.850
- ⑫ Mori A, Lee P, Yokoyama T, Oda H, Saeki K, Miki Y, Nozawa S, Azakami D, Momota

Y, Makino Y, Matsubara T, Osaka M, Ishioka K, Arai T, Sako T, Evaluation of artificial pancreas technology for continuous blood glucose monitoring in dogs. Journal of Artificial Organs 査読有, 14, 2011, 133-139.
DOI: 10.1007/s10047-011-0560-1

- ⑬ Mori N, Sakai M, Yamamoto I, Arai T, Alteration of physical indexes and plasma biochemical markers in overweight dogs induced by high-fat diet feeding. Research Journal of Veterinary Sciences 査読有, 4, 2011, 14-19. DOI: 10.3923/rjvs.2011.14.19
- ⑭ Sako T, Mori A, Lee P, Oda H, Saeki K, Miki Y, Kurishima M, Miura K, Nozawa S, Mizutani H, Makino Y, Ishioka K, Arai T, Time-action profiles of insulin detemir in normal and diabetic dogs. Research in Veterinary Science 査読有, 90, 2011, 396-403.
DOI: 10.1016/j.rvsc.2010.07.001
- ⑮ Muranaka S, Mori N, Hatano Y, Saito TR, Lee P, Kojima M, Kigure M, Yagishita M, Arai T, Obesity induced changes to plasma adiponectin concentration and cholesterol lipoprotein composition profile in cats. Research in Veterinary Science 査読有, 91, 2011, 358-361.
DOI: 10.1016/j.rvsc.2010.09.012
- ⑯ Mori N, Lee P, Kondo K, Kido T, Saito T, Arai T, Potential use of cholesterol lipoprotein profile to confirm obesity status in dogs. Veterinary Research Communications 査読有, 35, 2011, 223-235.
DOI: 10.1007/s11259-011.9466-x

[学会発表] (計 10 件)

- ① 佐藤稲子、片山欣哉、田村勝利、多川政弘、新井敏郎、田崎弘之、椎間板ヘルニアを発症した犬血液中の代謝成分について、第 152 回日本獣医学会学術集会、2011 年 9 月
- ② 新井敏郎、犬猫のメタボリックシンドローム判定基準と世田谷地区での取り組み、日本獣医内科学アカデミー/日本獣医臨床病理学会 2011 年大会、2011 年 3 月、横浜
- ③ Arai T, Clinical significance of insulin and adiponectin in obese animals. XIVth Congress of the International Society for Animal Clinical Pathology (招待講演), 2010 年 7 月, Corvallis, USA
- ④ Mori N, Lee P, Kondo T, Kido T, Arai T, Multifaced analysis of lipid

metabolism in canines. XIVth Congress of the International Society for Animal Clinical Pathology, 2010 年 7 月, Corvallis, USA

- ⑤ Mori A, Lee P, Sako T, Arai T, Changes in peripheral lymphocyte subsets in pituitary dependent hyperadrenocorticism dogs. XIVth Congress of the International Society for Animal Clinical Pathology, 2010 年 7 月, Corvallis, USA
- ⑥ Yamamoto I, Hayashi T, Takemitsu H, Mori N, Arai T, cDNA cloning and mRNA expression of cat GPR39. XIVth Congress of the International Society for Animal Clinical Pathology, 2010 年 7 月, Corvallis, USA
- ⑦ Takemitsu H, Yamamoto I, Mori N, Arai T, cDNA cloning and mRNA expression of dog PDX1. XIVth Congress of the International Society for Animal Clinical Pathology, 2010 年 7 月, Corvallis USA
- ⑧ 森伸子、波多野豊、酒井美帆、村中志朗、新井敏郎、近藤和雄、貴堂としみ、肥満した犬猫の血漿リポ蛋白質コレステロールの変化、第 150 回日本獣医学会学術集会、2010 年 9 月、帯広
- ⑨ 森伸子、山本一郎、新井敏郎、犬の高トリグリセリド血症の新しい診断基準、第 148 回日本獣医学会学術集会、2009 年 9 月、鳥取
- ⑩ 新井敏郎、犬および猫の肥満・糖尿病・メタボリックシンドロームの遺伝子診断、第 30 回動物臨床医学会 (招待講演)、2009 年 11 月、大阪

[図書] (計 2 件)

- ① 新井敏郎、山本一郎、他、チクサン出版、犬と猫の早期疾病診断学、2011、206
- ② Arai T、他、INTECH, TYPE 1 DIABETES Complications, Pathogenesis, and Alternative Treatments, 470

[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]

ホームページ等

<http://www.nvlu.ac.jp/research/005.html>
/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

新井 敏郎 (ARAI TOSHIRO)

日本獣医生命科学大学・獣医学部・教授
研究者番号：70184257

(2) 研究分担者

石岡 克己 (ISHIOKA KATSUMI)

日本獣医生命科学大学・獣医学部・准教授
研究者番号：60409258

山本 一郎 (YAMAMOTO ICHIRO)

日本獣医生命科学大学・獣医学部・講師
研究者番号：00424763

橋本 晴夫 (HASHIMOTO HARUO)

実験動物中央研究所・研究部・研究員
研究者番号：30353478

(3) 連携研究者

()

研究者番号：