

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 25 年 5 月 29 日現在

機関番号：14301
 研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2010～2012
 課題番号：22590975
 研究課題名（和文） 脂肪組織におけるインクレチン GIP の役割
 ー組織特異的受容体欠損マウスの解析ー
 研究課題名（英文） Role of GIP receptor signal in adipose tissue
 研究代表者
 原田 範雄 (HARADA NORIO)
 京都大学大学院医学研究科 糖尿病・栄養内科学 助教
 研究者番号：50530169

研究成果の概要（和文）：

本研究では脂肪組織特異的 GIP 受容体欠損マウス (GIPR^{adipo-/-}) を作製し、生体内での GIP の脂肪組織に対する直接作用を評価した。高脂肪食状態で GIPR^{adipo-/-} は負荷 6 週目より有意な体重低下を認めた。高脂肪負荷 15 週目の経口ブドウ糖負荷試験では GIPR^{adipo-/-} は aP2 プロモーター-Cre トランスジェニックマウス (aP2-Cre) および floxed GIP 受容体マウス (lox-GIPR) に比較して血糖値に有意な差を認めなかったが、インスリン値の低下を認めた。インスリン負荷試験の結果からインスリン抵抗性の改善を認めた。GIPR^{adipo-/-} では肝臓重量および肝臓内中性脂肪含有量の有意な低下を認めた。以上から高脂肪食負荷下の脂肪組織における GIPR シグナル欠損状態では、肝臓における脂肪量を有意に減少させインスリン感受性を改善させる。

研究成果の概要（英文）：

In this study, we clarified the effect of GIP on adipose tissue *in vivo* using adipose tissue specific GIP receptor-deficient mice (GIPR^{adipo-/-}). We fed high-fat diet (HFD) to aP2-Cre transgenic mice (aP2-Cre), floxed GIP receptor (lox-GIPR), and GIPR^{adipo-/-} for 8 weeks. Body weight changes were significantly lower in GIPR^{adipo-/-} than those in aP2-Cre and lox-GIPR. Oral glucose tolerance test showed that insulin levels were significantly lower in GIPR^{adipo-/-} than those in aP2-Cre and lox-GIPR, although blood glucose levels did not differ among three types of mice. Insulin tolerance test showed that insulin resistance was improved in GIPR^{adipo-/-}. Liver mass and fat content in liver were decreased in GIPR^{adipo-/-} than those in aP2-Cre and lox-GIPR. These results suggested that inhibition of GIP receptor signal in adipose tissue might decrease fat content in liver and improve insulin resistance under HFD-fed condition.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|---------|---------|---------|
| 2010 年度 | 1100000 | 330000 | 1430000 |
| 2011 年度 | 1000000 | 300000 | 1300000 |
| 2012 年度 | 1300000 | 390000 | 1690000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3400000 | 1030000 | 4420000 |

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：GIP, インクレチン, 肥満

科学研究費助成事業（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

Gastric inhibitory polypeptide (GIP)は、食事摂取によって腸管から分泌され、膵β細胞からのインスリン分泌を促進するインクレチンである。全身性GIP受容体(GIPR)欠損マウスの検討からGIPは高脂肪食負荷後の代償的インスリン分泌に関与すること、また*in vitro*の検討からGIP自体が脂肪組織に対してGIPRを介して直接的にエネルギー蓄積に作用する。このようにGIPシグナルとインスリンシグナルは密接な関係を持ち両者が協調的に肥満を誘導する。そのため両シグナルの各々を評価することは、肥満発症に対する作用機序の解明に大変重要である。しかし、脂肪組織における直接的なGIPシグナルとGIPを介したインスリンシグナルを生体内で別々に評価することは困難である。

2. 研究の目的

生体内でのGIPの脂肪組織に対する直接作用を検討するため脂肪組織特異的GIP受容体欠損マウスを作製し、脂肪組織におけるGIPシグナルが肥満形成にどのように関与するかを評価し、催肥満ホルモンとしてのGIPの役割を明らかにする。

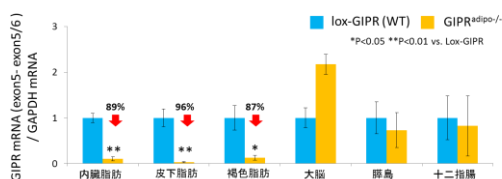
3. 研究の方法

floxed GIPR (lox-GIPR)マウスを作製してadipocyte protein 2 (aP2)プロモーター下Cre発現トランスジェニック(aP2-Cre)マウスと交配することにより、脂肪組織特異的GIP受容体欠損マウス(GIPR^{adipo}^{-/-})を作製した。野生型マウスとしてaP2-Creおよびlox-GIPRそしてGIPR^{adipo}^{-/-}に4週齢から10%通常食または60%高脂肪食負荷を15週間行い、摂食量と体重推移を評価した。また両食事負荷後に経口ブドウ糖負荷試験(OGTT)、インスリン負荷試験(ITT)、CT解析による脂肪量、呼吸商測定によるエネルギー消費量および脂肪消費量の測定を行った。

4. 研究成果

GIPR^{adipo}^{-/-}は、lox-GIPRと比較して皮下および内臓白色脂肪において約90%のGIPR発現量の低下を認めた(図1)。

図1: 脂肪特異的GIP受容体欠損マウスのGIP受容体発現

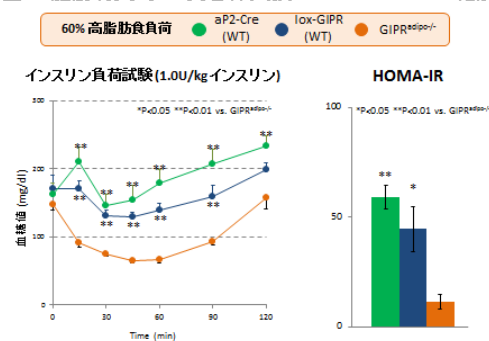


通常食負荷下では体重やOGTTによる耐糖

能、ITTによるインスリン感受性、脂肪量など3群間(lox-GIPR, aP2-Cre, GIPR^{adipo}^{-/-})で有意な差を認めなかった。

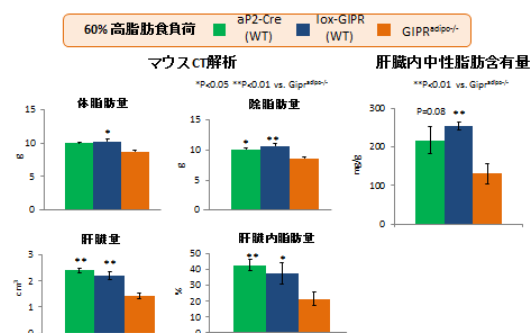
高脂肪食状態でGIPR^{adipo}^{-/-}は負荷6週目より有意な体重低下を認めた(摂食量に差を認めなかった)。負荷15週目のOGTTでは、GIPR^{adipo}^{-/-}はaP2-Creおよびlox-GIPRに比較して血糖値に有意な差を認めなかったが、インスリン値の低下を認めた。ITTでは、lox-GIPRとaP2-Creに比較してGIPR^{adipo}^{-/-}はインスリン抵抗性の改善を認めた。またHOMA-IRもGIPR^{adipo}^{-/-}において有意に低下していた(図2)。

図2: 脂肪特異的GIP受容体欠損マウスのインスリン感受性



CT解析による脂肪量は、lox-GIPRに比較して皮下脂肪量の有意な低下を認めたが、軽微なものであった(図3)。またlox-GIPRとは有意な差を認めなかった。内臓脂肪量は3群間で差を認めなかった。aP2-Creのエネルギー消費量は暗期において低下していたが、軽微なものであった。CT解析においてGIPR^{adipo}^{-/-}では肝臓重量、肝臓内脂肪量の低下を認めた。また肝臓内中性脂肪含有量は、GIPR^{adipo}^{-/-}で低下を認めた。加えて血中AST、ALT、ChEの有意な低下を認めた。

図3: 脂肪特異的GIP受容体欠損マウスの体脂肪量と肝臓内脂肪含有量



以上から高脂肪食負荷下の脂肪組織におけるGIPシグナル欠損状態では、脂肪量低下は軽微であるが、肝臓における脂肪量を有意に減少させインスリン感受性を改善させる。

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 13 件)

○英文原著

1. Joo E, Yamane S, Hamasaki A, Harada N, Matsunaga T, Muraoka A, Suzuki K, Nasteska D, Fukushima T, Hayashi T, Tsuji H, Shide K, Tsuda K, Inagaki N. Enteral supplement enriched with glutamine, fiber, and oligosaccharide attenuates experimental colitis in mice. *Nutrition*. 29(3):549-55, 2013, 査読あり. doi: 10.1016/j.nut.2012.09.007.
2. Suzuki K, Harada N, Yamane S, Nakamura Y, Sasaki K, Nasteska D, Joo E, Shibue K, Harada T, Hamasaki A, Toyoda K, Nagashima K, Inagaki N. Transcriptional regulatory factor X6 (Rfx6) increases gastric inhibitory polypeptide (GIP) expression in enteroendocrine K-cells and is involved in GIP hypersecretion in high fat diet-induced obesity. *J Biol Chem*. 288(3):1929-38, 2013, 査読あり. doi: 10.1074/jbc.M112.423137.
3. Harashima S, Fukushima T, Sasaki M, Nishi Y, Fujimoto S, Ogura M, Yamane S, Tanaka D, Harada N, Hamasaki A, Nagashima K, Nakahigashi Y, Seino Y, Inagaki N. Self-monitoring of blood glucose (SMBG) improves glycaemic control in oral hypoglycaemic agent (OHA)-treated type 2 diabetes (SMBG-OHA study). *Diabetes Metab Res Rev*. 29(1):77-84, 2013, 査読あり. doi: 10.1002/dmrr.2363.
4. Yamane S, Harada N, Hamasaki A, Muraoka A, Joo E, Suzuki K, Tanaka D, Ogura M, Harashima S, Inagaki N. The effects of glucose and meal ingestion on incretin secretion in Japanese subjects with normal glucose tolerance. *J Diabetes Invest*. 3(1): 80-85, 2012, 査読あり. doi: 10.1111/j.2040-1124.2011.00143.x
5. Sakamoto E, Seino Y, Fukami N, Tsunekawa S, Ishikawa K, Ogata H, Uenishi E, Kamiya H, Hamada Y, Sato H, Harada N, Toyoda Y, Miwa I, Nakamura J, Inagaki N, Oiso Y, Ozaki N. Ingestion of a moderate high-sucrose diet results in glucose intolerance with reduced liver glucokinase activity and impaired glucagon-like peptide-1 secretion. *J Diabetes Invest*. 3(5):432-440, 2012, 査読あり. doi: 10.1111/j.2040-1124.2012.00208.x
6. Himeno T, Kamiya H, Naruse K, Harada N,

Ozaki N, Seino Y, Shibata T, Kondo M, Kato J, Okawa T, Fukami A, Hamada Y, Inagaki N, Seino Y, Drucker DJ, Oiso Y, Nakamura J. Beneficial Effects of Exendin-4 on Experimental Polyneuropathy in Diabetic Mice. *Diabetes*. 60(9): 2397-2406, 2012, 査読あり. doi: 10.2337/db10-1462.

7. Ogawa E, Hosokawa M, Harada N, Yamane S, Hamasaki A, Toyoda K, Fujimoto S, Fujita Y, Fukuda K, Tsukiyama K, Yamada Y, Seino Y, Inagaki N. The effect of gastric inhibitory polypeptide on intestinal glucose absorption and intestinal motility in mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 404(1):115-20, 2012, 査読あり. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.

8. Harada N, Hamasaki A, Muraoka A, Yamane S, Joo E, Fujita K, Inagaki N. Plasma GIP and GLP-1 levels after glucose loading are associated with different factors in Japanese subjects. *J Diabetes Invest*. 2(3):193-199, 2011, 査読あり. doi: 10.1111/j.2040-1124.2010.00078.x

9. Yamane S, Hamamoto Y, Harashima S, Harada N, Hamasaki A, Toyoda K, Fujita K, Joo E, Seino Y, Inagaki N. GLP-1 receptor agonist attenuates endoplasmic reticulum stress-mediated β -cell damage in Akita mice. *J Diabetes Invest*. 2(2):104-110, 2011, 査読あり. doi: 10.1111/j.2040-1124.2010.00075.x

10. Kawasaki Y, Harashima S, Sasaki M, Mukai E, Nakamura Y, Harada N, Toyoda K, Hamasaki A, Yamane S, Yamada C, Yamada Y, Seino Y, Inagaki N. Exendin-4 Protects Pancreatic Beta Cells from the Cytotoxic Effect of Rapamycin by Inhibiting JNK and p38 Phosphorylation. *Horm Metab Horm Metab Res*. 42(5):311-317, 2010, 査読あり. doi: 10.1055/s-0030-1249035.

○英文総説

11. Harada N and Inagaki N. Role of sodium-glucose transporters in glucose uptake of the intestine and kidney. *J Diabetes Invest*. 3(4):352-353, 2012, 査読あり. doi: 10.1111/j.2040-1124.2012.00227.x

○和文原著

12. 福島 徹, 原田 範雄, 佐々木 真弓, 田中 大祐, 濱崎 暁洋, 長嶋 一昭, 八幡 三喜男, 稲垣 暢也. 治療経過中に生じた血糖値不安定に対してCGMが有用であったインスリン抗体陽性糖尿病の1例. *糖尿病*. 55 巻 12 号, 966-972, 2012, 査読あり.

13. 佐々木 真弓, 原田 範雄, 佐藤 広規, 豊田 健太郎, 濱崎 暁洋, 長嶋 一昭, 藤本 新平, 稲垣 暢也. 全身性強皮症に合併した

GAD抗体およびIA-2抗体陽性劇症1型糖尿病の1例. 糖尿病. 55巻10号, 781-785, 2012, 査読あり.

[学会発表] (計7件)

○国際学会

1. **Harada N**, Yamane S, Hamasaki A, Inagaki N, The effect of GIP on high-fat induce obesity. 26th Spring Congress of Korean Diabetes Association/1st Korea-Japan Diabetes Forum, Jeju, Korea, 5/10-11/2013.

2. **Harada N**, Yamane S, Hamasaki A, Inagaki N. Effect of insufficient GIP secretion on high-fat diet induced obesity. 9th International Diabetes Federation Western Pacific Region Congress / 4th Scientific Meeting of the Asian Association for the Study of Diabetes, Kyoto, Japan, 11/23-25/2012

3. **Harada N**, Suzuki K, Nasteska D, Yamane S, Hamasaki A, Inagaki N. The effect of high-fat diet induced obesity on secretion of gastric inhibitory polypeptide from K-cells. 16th Japan-Korea Symposium on Diabetes Mellitus. Tokyo, Japan, 10/20-21/2011

4. **Harada N**, Hamasaki A, Muraoka A, Yamane S, Joo E, Fujita K, Takano T, Inagaki N. Plasma GIP and GLP-1 levels are associated with distinct factors after glucose loading in Japanese subjects. American Diabetes Association 70th Scientific Sessions, Orland, FL, 6/25-29/2010

○国内学会

5. **原田 範雄**, 藤田 和代, 浜崎 暁洋, 山根 俊介, Dainela Nasteska, 佐々木 香月, 中村 靖彦, 稲垣 暢也. 高脂肪食負荷状態におけるGIP分泌の検討. 第23回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会, 名古屋, 2012年2月17-18日

6. **原田 範雄**, 山根 俊介, 浜崎 暁洋, 稲垣 暢也. 高脂肪食負荷状態におけるGIP分泌及び作用の検討. 第55回日本糖尿病学会年次学術集会, 横浜, 2012年5月17-19日

7. **原田 範雄**, 山根 俊介, 浜崎 暁洋, 稲垣 暢也. 日本人健常者のインクレチン分泌とインクレチン作用. 第47回日本糖尿病学会近畿地方会, 大阪, 2010年11月13日 [図書] (計22件)

1. **原田 範雄**. 【インクレチン関連薬】徹底比較!DPP-4阻害薬 vs GLP-1受容体作動薬体重減少作用. 南山堂, 薬局. 63巻13号, 3643-3648, 2012.

2. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【糖尿病診療における検査:最新トピックス】インクレチン測定. 医学出版, 月刊糖尿病. 4巻13号, 65-68, 2012.

3. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【インクレチン療法-インクレチン治療で何が変わったか-】インクレチンの基礎と臨床 GIPの肥満への影響. 医学出版, 月刊糖尿病. 4巻7号, 35-40, 2011.

4. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【インクレチン関連薬の現状と課題】インクレチン関連薬の新しい知見と話題 肥満とインクレチン. ライフ・サイエンス社, Progress in Medicine. 32巻9号, 1861-1866, 2012.

5. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【糖尿病の薬物療法-最新の治療と将来展望】治療薬解説 DPP-4阻害薬とGLP-1受容体作動薬. ライフ・サイエンス社, カレントセラピー. 30巻7号, 651-656, 2012.

6. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【糖尿病治療薬2012 皆が知りたい新しい治療A to Z】変化する抗糖尿病薬内服治療 DPP-4阻害薬が蘇らせるGIP. 医学書院, Medicina. 49巻5号, 773-776, 2012.

7. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【変貌する糖尿病治療】糖尿病治療薬 DPP-4阻害薬. 臨床と研究. 大道學館出版部, 89巻1号, 10-14, 2012.

8. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【内分泌器官としての消化管とその疾病~消化管ペプチドの意義と応用~】GLP-1と関連疾患. 医薬ジャーナル社, 医薬ジャーナル. 47巻8号, 2071-2076, 2011.

9. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【消化管とエネルギー代謝】インクレチン GIP と GLP-1. ニュー・サイエンス社, Medical Science Digest. 37巻7号, 265-268, 2011.

10. **原田 範雄**. 【インクレチン関連薬 糖尿病治療のパラダイムシフト】インクレチンの基礎・臨床研究の進歩 インクレチン受容体の構造と機能 Gタンパク共役型受容体としての特性. 日本臨床社, 日本臨床. 69巻5号, 813-820, 2011.

11. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【糖尿病診断基準2010 臨床での応用と実際】その他の血糖管理指標の測定法とその基準値に関する項目 インクレチン濃度とその評価の意義. 総合医学社, 糖尿病レクチャー. 1巻3号, 553-559, 2011.

12. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【代謝・内分泌ネットワークと医薬応用 摂食・エネルギー調節に関わる生理活性ペプチドの機能と糖尿病やメタボリックシンドロームを標的とした創薬展開】生理活性ペプチドと疾患・臨床応用 生理活性ペプチドの臨床応用 インクレチンとインクレチンを応用した治療の可能性. 羊土社, 実験医学. 29巻5号, 820-828, 2011.

13. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【インクレチン研究と創薬への展開】GIPとGLP-1の膵島への作用. 最新医学社, 最新医学. 66巻1号,

21-27, 2011.

14. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【インクレチン療法 実践ブラッシュアップ】診断と治療社, 体重におよぼすインクレチンの作用. 125-129, 2011.

15. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【糖尿病診療 2010】糖尿病の早期治療 薬物療法 インクレチン関連薬 DPP-4 阻害薬の特徴と適応. 日本医師会, 日本医師会雑誌. 139 巻特別 2, S213-S217, 2010.

16. 藤田 和代, **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【新しい経口糖尿病薬療法 インクレチン薬をめぐって】インクレチンの膵作用と膵外作用とは(Q&A/特集). 総合医学社, 糖尿病レクチャー. 1 巻 1 号, 31-37, 2010.

17. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【糖尿病大血管症 エビデンスに基づく発症・進展制御】インクレチンとインクレチン関連薬. 日本臨床社, 日本臨床. 68 巻 5 号, 931-942, 2010.

18. **原田 範雄**. 【インクレチン】インクレチンの基礎 Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4). 月刊糖尿病. 医学出版, 2 巻 2 号, 78-81, 2010.

19. 藤田 義人, **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 新しい糖尿病薬(インクレチン関連薬)の使い方. 羊土社, レジデントノート. 11 巻 12 号, 1757-1762, 2010.

20. **原田 範雄**. 【レジデント必携 糖尿病診療の ABC (岡本元純編) II.】文光堂, レクチャー インクレチンとインクレチン関連薬. 57-63, 2010, 査読なし.

21. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【糖尿病研修ノート】診断と治療社, DPP-4 阻害薬. 11 巻 3 号, 248-280, 2010.

22. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【糖尿病診断基準 2010 -臨床での応用と実際-】インクレチン濃度とその評価の意義. 総合医学社, 糖尿病レクチャー. 11 巻. 3 号, 553-559, 2010.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

原田 範雄 (HARADA NORIO)

京都大学大学院医学研究科

糖尿病・栄養内科学 助教

研究者番号: 50530169