

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 21 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461344

研究課題名(和文)GIP分泌抑制による抗肥満効果の検討

研究課題名(英文)Reduction of GIP secretion alleviates obesity and insulin resistance under high fat diet condition

研究代表者

原田 範雄 (HARADA, NORIO)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：50530169

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：GIP欠損マウスを用いてGIP分泌減少およびGIP分泌欠損状態での高脂肪食負荷下の肥満やインスリン抵抗性について評価した。糖負荷後のGIP分泌量は、野生型(WT)マウスに比較してGIP欠損ヘテロマウス(GIPgfp/+)で50%低下し、ホモマウス(GIPgfp/gfp)のGIP分泌は認めなかった。60%高脂肪食負荷を行ったところ、GIP分泌量依存性に体重増加および体脂肪量の増加が抑制された。インスリン負荷試験の結果からGIP分泌の減少および欠損はインスリン感受性を増加させた。よって高脂肪食負荷状態下のGIP分泌の抑制は、高脂肪食肥満やインスリン抵抗性を軽減することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We generated GIP-deficient mice with reduced and lacking GIP secretion and examine glucose tolerance, bone formation, and high fat diet (HFD)-induced obesity and insulin resistance. During oral glucose tolerance test (OGTT), heterozygous GIP-reduced mice (GIPgfp/+) had significantly decreased GIP levels (~50%) compared to wild-type mice (WT). In homozygous GIP-lacking mice (GIPgfp/gfp), GIP levels were undetectable. Insulin levels during OGTT were significantly lower in GIPgfp/+ and GIPgfp/gfp. Bone volume in GIPgfp/+ was similar to that in WT, while GIPgfp/gfp had decreased bone volume. Body weight gain and total body fat mass after 8 weeks of HFD were decreased in GIPgfp/+ compared to those in WT; GIPgfp/gfp had the lowest body weight and body fat mass. Insulin sensitivity in GIPgfp/+ and GIPgfp/gfp was improved compared to that in WT from data of insulin tolerance test. Thus, chronic reduction of GIP secretion alleviates obesity and insulin resistance under HFD condition.

研究分野：代謝学

キーワード：インクレチン GIP インスリン分泌 耐糖能 骨代謝 肥満 インスリン抵抗性

## 1. 研究開始当初の背景

gastric inhibitory polypeptide (GIP)は、摂食時の糖や脂質など栄養素の刺激によって腸管内分泌 K 細胞から分泌されるインクレチンである。食事摂取によって分泌された GIP は、血行性に膵β細胞に存在する GIP 受容体に作用してグルコース存在下にインスリン分泌を促進する。GIP 受容体は脂肪組織や骨組織に存在することが知られている。我々は GIP 受容体欠損マウスの検討を用いて高脂肪食負荷状態下の GIP 受容体シグナルの欠損が肥満やインスリン抵抗性増加を軽減することを報告した (Naitoh R, et al. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008.)。また GIP 受容体欠損マウスでは野生型マウスに比較して骨密度が低下することを報告されている (Tsukiyama K, et al. *Mol Endocrinol* 2006)。以上から GIP はインスリンの分泌促進作用ばかりでなく摂取したエネルギーやカルシウムイオンを脂肪組織や骨組織に効率的に蓄積する作用を有している。しかし、GIP 分泌の抑制が、インスリン分泌や耐糖能、肥満、骨に対してどの程度影響するかは不明である。

## 2. 研究の目的

GIP 遺伝子に green fluorescent protein (GFP)を挿入した GIP-GFP knock-in マウスを用いて GIP 分泌減少および欠損状態でのインスリン分泌能や骨量、高脂肪食負荷下の肥満やインスリン抵抗性について評価した。

## 3. 研究の方法

9 週齢野生型(WT)マウスおよび GIP-GFP ヘテロ (GIP<sup>gfp/+</sup>)マウス、GIP-GFP ホモ(GIP<sup>gfp/gfp</sup>)マウスを用いて経口ブドウ糖負荷試験(OGTT)を行った。OGTT 中の総 GIP 濃度、血糖値、インスリン値を測定した。8 週間の通常食負荷(10%脂肪含)を行い、体重や食事摂取量を評価した。次にマウス 3 群に高脂肪食(60%脂肪含)を 8 週間行い、体重と食事摂取量を評価した。8 週間負荷後に OGTT と ITT を

行った。8 週間負荷後に腹部 CT 検査を行い、皮下脂肪や内臓脂肪量を測定した。また呼吸商を測定し、脂肪消費量やエネルギー消費量を評価した。6 週齢マウスに骨形態計測を行った。

## 4. 研究成果

GIP-GFP ヘテロ(GIP<sup>gfp/+</sup>)マウスおよびホモ (GIP<sup>gfp/gfp</sup>)マウスに経口ブドウ糖負荷試験(OGTT)を行ったところ、野生型(WT)マウスに比較して GIP<sup>gfp/+</sup>マウスの GIP 分泌量は 50%低下し、GIP<sup>gfp/gfp</sup>マウスの GIP 分泌は認めなかった。OGTT 負荷 15 分後のインスリン値が WT マウスに比較して GIP<sup>gfp/+</sup>および GIP<sup>gfp/gfp</sup>マウスで低下した結果、負荷後 30 分後の血糖値は有意に上昇した。8 週間の通常食負荷を行ったところ、有意な体重や摂食量の差を 3 群間で認めなかった。

次に WT、GIP<sup>gfp/+</sup>、GIP<sup>gfp/gfp</sup>マウスに 8 週間の高脂肪食負荷を行ったところ、GIP<sup>gfp/+</sup>および GIP<sup>gfp/gfp</sup>マウスの体重は WT マウスに比較して有意な低下し、特に GIP<sup>gfp/gfp</sup>マウスで最も低かった。摂食量に有意な差を認めなかった。高脂肪食負荷終了後に CT にて脂肪量を測定したところ、高脂肪食負荷 GIP<sup>gfp/+</sup>および GIP<sup>gfp/gfp</sup>マウスの皮下脂肪、内臓脂肪量は高脂肪食負荷 WT マウスに比較して有意に減少した。高脂肪食負荷 GIP<sup>-/-</sup>で最も脂肪量が低かった。ITT では、インスリン感受性は高脂肪食負荷 WT マウスに比較して高脂肪食負荷 GIP<sup>gfp/+</sup>および GIP<sup>gfp/gfp</sup>マウスで高く、GIP<sup>gfp/gfp</sup>マウスで最も高かった。経口ブドウ糖負荷試験後の血糖値は 3 群間で有意な差を認めなかったが、インスリン値は高脂肪食負荷 GIP<sup>gfp/+</sup>および GIP<sup>gfp/gfp</sup>マウスで高脂肪食負荷 WT マウスに比較して有意に低く、GIP<sup>gfp/gfp</sup>マウスで最も低値であった。脂肪消費量やエネルギー消費量は、WT マウスに比較して GIP<sup>gfp/gfp</sup>マウスで有意に高く、GIP<sup>gfp/+</sup>マウスで高い傾向であった。以上から高脂肪食負荷下での GIP 分泌の抑制は、肥満やインスリン抵抗性を軽減させることが明らかとなった。

## 様式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

WT、GIP<sup>gf/+</sup>、GIP<sup>gf/gf</sup> マウスを用いて GIP 分泌抑制下の骨組織への影響を評価した。骨量については、GIP<sup>gf/gf</sup> マウスで有意に低下し、一方 WT マウスと GIP<sup>gf/+</sup> マウスで差を認めなかった。骨梁数は、GIP<sup>gf/gf</sup> マウスで有意に減少した。

以上の結果から GIP 分泌の抑制は、通常食負荷状態で糖負荷後のインスリン分泌を抑制し耐糖能の悪化を認めるが、高脂肪食負荷状態下の GIP 分泌の抑制は、インスリン抵抗性や高脂肪食肥満を軽減することが示唆された。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 14 件)

1. Matsumoto T, **Harada N**, Azuma M, Chihara Y, Murase K, Tachikawa R, Minami T, Hamada S, Tanizawa K, Inouchi M, Mishima Y, Chin K. Plasma incretin levels and dipeptidyl peptidase-4 activity in patients with obstructive sleep apnea. *Annals of the American Thoracic Society* in press, 2016.
2. Kondo Y, **Harada N**, Hamasaki A, Kaneko S, Yasuda K, Ogawa E, Harashima S, Yoneda H, Fujita Y, Kitano N, Nakamura Y, Matsuo F, Shinji M, Hinotsu S, Nakayama T, Inagaki N. Sitagliptin monotherapy has better effect on insulinogenic index than glimepiride monotherapy in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus: a 52-week, multicenter, parallel-group randomized controlled trial. *Diabetology & Metabolic Syndrome* 27;8:15, 2016.
3. Iwasaki K, **Harada N**, Sasaki K, Yamane S, Iida K, Suzuki K, Hamasaki A, Joo E, Nasteska D, Shibue K, Harada T, Hashimoto T, Asakawa Y, Hirasawa A, Inagaki N. Free fatty acid receptor GPR120 is highly expressed in enteroendocrine K-cells of upper small intestine and has a critical role in GIP secretion after fat ingestion. *Endocrinology*. 156(3):837-46, 2015.
4. Shibue K, Yamane S, **Harada N**, Hamasaki A, Suzuki K, Joo E, Iwasaki K, Nasteska D, Harada T, Hayashi Y, Adachi Y, Owada Y, Takayanagi R, Inagaki N. Fatty acid binding protein 5 (FABP5) regulates diet-induced obesity (DIO) via GIP secretion from enteroendocrine K-cells in response to fat ingestion. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*1;308(7):E583-91, 2015.
5. Yabe D, Kuroe A, Watanabe K, Iwasaki M, Hamasaki A, Hamamoto Y, **Harada N**, Yamane S, Lee S, Murotani K, Deacon CF, Holst JJ, Hirano T, Inagaki N, Kurose T, Seino Y. Early phase glucagon and insulin secretory abnormalities, but not incretin secretion, are similarly responsible for hyperglycemia after ingestion of nutrients. *Journal of Diabetes and Its Complications*. 29(3):413-21, 2015.
6. Seino Y, Ogata H, Maekawa R, Izumoto T, Iida A, **Harada N**, Miki T, Seino S, Inagaki N, Tsunekawa S, Oiso Y, Hamada Y. Fructose induces glucose-dependent insulinotropic polypeptide, glucagon-like peptide-1 and insulin secretion: Role of adenosine triphosphate-sensitive K(+) channels. *J Diabetes Investig*. 6(3):302-8, 2015.
7. Joo E, Muraoka A, Hamasaki A, **Harada N**, Yamane S, Kondo Y, Suzuki K, Nasteska D, Shibue K, Harada T, Iwasaki K, Tsuji H, Shide K, Inagaki N. Enteral supplementation with glutamine, fiber, and oligosaccharide modulates incretin and GLP-2 secretion. *J Diabetes Investig*. 6(3):302-8, 2015.
8. Nasteska D, **Harada N**, Suzuki K, Yamane S, Hamasaki A, Joo E, Iwasaki K, Shibue K, Harada T, Inagaki N. Chronic reduction of GIP secretion alleviates obesity and insulin resistance under high fat diet condition. *Diabetes*. 63(7): 2332-2343, 2014.
9. Ogata H, Seino Y, **Harada N**, Iida A, Suzuki K, Izumoto T, Ishikawa K, Uenishi E, Ozaki N,

様式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

- Hayashi Y, Miki T, Inagaki N. KATP channel as well as SGLT1 participates in GIP secretion in the diabetic state. *J Endocrinol.* 222(2): 191-200, 2014
- Okawa T, Kamiya H, Himeno T, Seino Y, Tsunekawa S, Hayashi Y, **Harada N**, Yamada Y, Inagaki N, Seino Y, Oiso Y, Nakamura J. Sensory and motor physiological functions are impaired in gastric inhibitory polypeptide receptor-deficient mice. *J Diabetes Invest.* 5(1) 31-37, 2014.
  - 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.
  - Kondo Y, **Harada N**, Sozu T, Hamasaki A, Yamane S, Muraoka A, Harada T, Shibue K, Nasteska D, Joo E, Sasaki K, Inagaki N. Hospital-based cross-sectional study to develop an estimation formula for 2-hours post-challenge plasma glucose for screening impaired glucose tolerance. *Diabetes Res Clin Pract.* 101(2):218-25, 2013.
  - 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.
  - Hosokawa M, Hamasaki A, Nagashima K, Harashima S, Toyoda K, Fujita Y, **Harada N**, Nakahigashi Y, Fujimoto S, Inagaki N. Lack of goal attainment of LDL cholesterol levels in management of type 2 diabetes mellitus. *Internal Med.* 52(21):2409-15, 2013.
- [学会発表] (計 8 件)
- 原田 範雄**. 高脂肪食摂取による GIP 分泌亢進と肥満誘導の機序. 第 21 回 Hind Gut Japan symposium, 12 月 5 日, 2015, 東京.
  - 原田 範雄**. 岩崎 可南子, 佐々木 香月, 山根 俊介, 飯田 桂子, 濱崎 暁洋, 鈴木 和代, 城尾 恵里奈, ナステスカ ダニエラ, 渋江 公尊, 原田 貴成, 平澤 明, 稲垣 暢也. 脂肪酸受容体 GPR120 は上部小腸 K 細胞に高発現し脂肪摂取後の GIP 分泌に深く関与する. 第 29 回糖尿病・肥満動物学会, 2 月 13-14 日, 2015, 京都.
  - Harada N**, Yamane S, Inagaki N. The role of GIP in high fat diet-induced obesity. 2014 9th Metabolic Syndrome, Type 2 Diabetes, Atherosclerosis Congress, September 12-14, Kyoto, Japan.
  - 原田 範雄**. 永口 晴美, 川勝 優子, 大倉 瑞代, 川田 政代, 幣 憲一郎, 塚本 達雄, 柳田 素子, 稲垣 暢也. 当院における糖尿病透析予防指導の取り組み ~ チーム医療の重要性 ~. 第 17 回日本病態栄養学会, 1 月 10-11 日, 2014, 大阪.
  - Harada N** and Inagaki N. GIP and high-fat diet-induced obesity. 5th Scientific Meeting of AASD in conjunction with 2013 ICDM. November 6 - 9, 2013, Seoul, Korea.
  - Harada N**, Yamane S, Hamasaki A, Inagaki N. The effect of GIP on high-fat induced obesity. 26th Spring Congress of Korean Diabetes Association/1st Korea-Japan Diabetes Forum, May 11-13, 2013, Jeju, Korea.
  - 原田 範雄**. ダニエラ・ナステスカ, 鈴木 和代, 濱崎 暁洋, 山根 俊介, 城尾 恵里奈, 渋江 公尊, 原田 貴成, 稲垣 暢也. GIP 分泌低下が耐糖能と高脂肪食肥満に及ぼす影響, 第 34 回日本肥満学会, 10 月 11-12 日, 2013, 東京.
  - 原田 範雄**. 稲垣 暢也. 脂肪摂取と肥満. 第 50 回日本糖尿病学会近畿地方会, 11 月 23 日, 2013, 京都.

[図書] (計 16 件)

1. 三小田 亜希子, **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【糖尿病 基礎分野での進歩】 糖尿病治療標的としての G タンパク質共役脂肪酸受容体. Annual Review 糖尿病・代謝・内分泌 2016 巻 35-42, 2016.
2. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【インクレチン薬による糖尿病治療の革新-基礎と臨床の架け橋-】 臨床 長期作用型インクレチン関連薬について. 最新医学 71 巻 1 号, 89-96, 2016.
3. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【糖尿病治療新時代-糖尿病治療の update-】 新しい糖尿病治療薬の現状と開発動向 週 1 回投与 DPP-4 阻害薬. 日本臨床 73 巻 12 号 P2096-2102, 2015.
4. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【糖尿病の療養指導 Q&A】 週 1 回投与型 DPP-4 阻害薬の特徴と利便性. プラクティス 32 巻 5 号 578-580, 2015.
5. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【DPP-4 阻害薬-前向き大規模臨床試験に期待するもの】 DPP-4 阻害薬の効果と現状. 糖尿病の最新治療. フジメディカル出版 6 巻 1 号 10-15, 2014.
6. 岩崎 可南子, **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【インクレチン製剤と心血管代謝病】 インクレチンの肥満に及ぼす影響. 血管医学. メディカルレビュー社 15 巻 4 号 369-375, 2014.
7. **原田 範雄**. 【糖尿病治療薬 Q&A-最新の SGLT-2 阻害薬を含め賢く使い分ける-】 DPP-4 阻害薬の作用機序、種類、代謝・排泄について. 治療. 南山堂 96 巻 6 号 972-973, 2014.
8. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【グルカゴンの分泌調節と作用】 GLP-1 の生成と分泌について. 内分泌・糖尿病・代謝内科, 38 巻 5 号 417-423, 2014.
9. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 栄養代謝制御における消化管生理活性ペプチドの役割】 GLP-1 のインクレチン作用と食欲および栄養代謝調節作用. 臨床消化器内科, 臨床医学出版, 28 巻 6 号 691-698, 2013.
10. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. インクレチンとインクレチン関連薬, PTM マニュアル, 日本メディス, 12 月号, 2013.
11. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【DPP-4 阻害薬登場後の糖尿病治療の変化】 インクレチン関連薬の作用機序, カレントセラピー, ライフメディコム, 32 巻 4 号 356-362, 2014.
12. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【糖尿病-診断・治療 Update-】 GLP-1 受容体作動薬による治療, 最新医学, 最新医学社, 69 巻 1 号 97-104, 2014
13. **原田 範雄**. 【インクレチン関連薬による糖尿病治療の新時代】 インクレチンとは? 成人病と生活習慣病, 東京医学社, 43 巻 12 号 1419-1424, 2013.
14. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【2 型糖尿病治療の新時代を迎えて】 インクレチンと血糖管理 DPP-4 阻害薬の臨床薬理特性と臨床効果, Diabetes Frontier, メディカルレビュー社, 24 巻 6 号 675-680, 2013.
15. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【糖尿病発症における臓器の役割】 膵臓 膵  $\alpha$  細胞と膵  $\beta$  細胞, 糖尿病, 日本糖尿病学会, 56 巻 7 号 406-408, 2013.
16. **原田 範雄**, 稲垣 暢也. 【内分泌ホルモンのすべて】 (第 9 章)膵・消化管ホルモン GLP-1 内分泌・糖尿病・代謝内科, 科学評論社, 36 巻 Suppl.4 316-322, 2013.

[産業財産権] なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

原田 範雄 (Norio Harada)

京都大学・医学(系) 研究科・助教

研究者番号: 50530169