

Banyu Foundation Research Grant 2013—生活習慣病領域—

研究成果報告書(最終) <概要>

所 属	京都大学大学院医学研究科 糖尿病・内分泌・栄養内科学
氏 名	藤田 義人
研究テーマ	新規 eNOS 機能制御因子の探索による糖尿病および合併症に対する統合的治療法の開発

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

【研究の背景と目的】

2 型糖尿病の病因である肥満およびインスリン抵抗性は血管内皮機能障害を引き起こす。これには eNOS の機能障害が関与することが知られている。その一方で、eNOS 機能障害自体がインスリン抵抗性や糖代謝異常を引き起こすことが注目されている。肥満やインスリン抵抗性など酸化ストレス環境下では、Tetrahydrobiopterin(BH4)の作用不足が起こり eNOS 機能障害の原因となり得る。また、糖尿病腎症の発症には eNOS 作用不足が関与することが eNOS 欠損マウスに高血糖を負荷したマウスモデルの解析により報告されている。本研究は BH4 産生が欠乏しているモデルマウスを解析し、糖尿病および糖尿病合併症に対する統合的治療法を開発することを目的とした。

【研究手法】

BH4 欠乏マウス(hph-1 mutant マウス)、およびそのバックグラウンドマウス(C57BL/6×CBA)について、糖代謝、肥満、脂肪蓄積およびエネルギー代謝の表現型について解析した。hph-1 マウスに BH4 を 10 日間連続投与し糖・脂質およびエネルギー代謝への影響を解析した。hph-1 mutant マウスにストレプトゾトシン(STZ)を負荷し高血糖を誘発し、腎病変への影響について解析した。

【研究成果】

通常食において hph-1 mutant マウスは空腹時血糖および随時血糖値が有意に高く、高インスリン血症、耐糖能障害、インスリン抵抗性の病態を呈しており、ピルビン酸負荷試験では肝臓糖新生の亢進が認められた。次に、4 週間の高脂肪食負荷を行ったところ hph-1 mutant マウスではバックグラウンドマウスと比較して有意な体重および脂肪量の増加を認めた。肥満誘発の原因として、我々は BH4 が褐色脂肪組織機能に大きな影響を及ぼしていることを発見した。hph-1 mutant マウスでは 褐色脂肪組織における脂肪滴の増大を認め、電子顕微鏡により、ミトコンドリア量の減少及びクリスタ構造の異常が観察された。また cold tolerance test では深部体温の低下を認め、エネルギー代謝機構の破綻ならびに肥満の進展への関与が示唆された(図)。さらに、バックグラウンドマウス由来の褐色脂肪組織を hph-1 mutant マウスの内臓脂肪組織に移植したところ深部体温の上昇、体重増加の抑制、および血糖値の低下作用が認められた。次に、BH4 の糖尿病合併症に対する影響について検討した。hph-1 mutant マウスに高血糖負荷を行ったところ、腎糸球体の足突起の変性、近位尿細管のミトコンドリア異常、アルブミン尿の増加を認めた。

通常食において hph-1 mutant マウスは空腹時血糖および随時血糖値が有意に高く、高インスリン血症、耐糖能障害、インスリン抵抗性の病態を呈しており、ピルビン酸負荷試験では肝臓糖新生の亢進が認められた。次に、4 週間の高脂肪食負荷を行ったところ hph-1 mutant マウスではバックグラウンドマウスと比較して有意な体重および脂肪量の増加を認めた。肥満誘発の原因として、我々は BH4 が褐色脂肪組織機能に大きな影響を及ぼしていることを発見した。hph-1 mutant マウスでは褐色脂肪組織における脂肪滴の増大を認め、電子顕微鏡により、ミトコンドリア量の減少及びクリスタ構造の異常が観察された。また cold tolerance test では深部体温の低下を認め、エネルギー代謝機構の破綻ならびに肥満の進展への関与が示唆された(図)。さらに、バックグラウンドマウス由来の褐色脂肪組織を hph-1 mutant マウスの内臓脂肪組織に移植したところ深部体温の上昇、体重増加の抑制、および血糖値の低下作用が認められた。次に、BH4 の糖尿病合併症に対する影響について検討した。hph-1 mutant マウスに高血糖負荷を行ったところ、腎糸球体の足突起の変性、近位尿細管のミトコンドリア異常、アルブミン尿の増加を認めた。

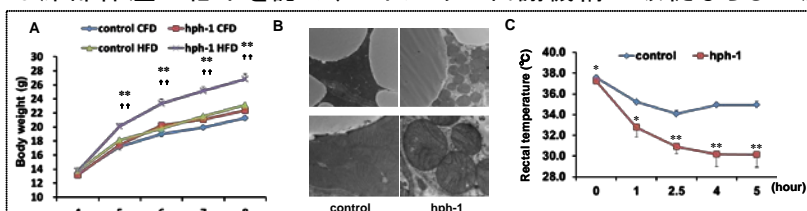


図. BH4欠乏による褐色脂肪組織への影響
 (A)高脂肪食による体重の変化。(** P<0.01, hph-1 fed HFD vs control fed HFD, † † P< 0.01, hph-1 fed HFD vs hph-1 fed CFD, n = 9) (B) brown adipose tissue (BAT)のミトコンドリア電顕像。
 (C) Cold tolerance test (4°C下の直腸温)。(† P<0.05, ** P<0.01, n = 6-7)

次に、BH4 の糖尿病合併症に対する影響について検討した。hph-1 mutant マウスに高血糖負荷を行ったところ、腎糸球体の足突起の変性、近位尿細管のミトコンドリア異常、アルブミン尿の増加を認めた。

【結論、考察、および今後の課題】

BH4 が糖・脂質およびエネルギー代謝に影響を及ぼし、BH4 の欠乏がインスリン抵抗性、耐糖能異常の発症および肥満の進展に関与することが示された。今後の課題として BH4 による褐色脂肪組織の分化制御機構、およびそれらを介した糖・脂質およびエネルギー代謝への関与について明らかにしたい。また、高血糖、および BH4 の作用不足による eNOS 機能障害が相互的に糖尿病腎症の病態形成に関与する可能性が考えられた。本研究をさらに発展させることにより、ミトコンドリア機能を介した糖尿病、肥満および糖尿病合併症に対する統合的治療法として、BH4 の有用性が確立することが期待できる。

様式 4-2②

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ・ 国内外を問わない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2015年6月	American Diabetes Association 75th Scientific Sessions. Y.Oguri, <u>Y. Fujita</u> , A. Abudukadier, A. Obara, A. Ohashi, F. Furuya, T. Fukushima, H. Hasegawa, M. Hosokawa, N. Inagaki. Novel Role of eNOS Co-factor Tetrahydrobiopterin for Mitochondrial Regulation in Adiposity and Energy Homeostasis
2	2015年5月	第58回日本糖尿病学会年次学術集会/第2回肝臓と糖尿病・代謝研究会. 小栗靖生、 <u>藤田義人</u> 、Abulizi Abudukadier、小原章央、大橋晶子、古谷太志、福島徹、長谷川宏幸、細川雅也、稲垣暢也。テトラヒドロピオプテリンによる糖・脂質およびエネルギー代謝制御機構の解明
3	2015年5月	第58回日本糖尿病学会年次学術集会/第2回肝臓と糖尿病・代謝研究会. 小原章央、 <u>藤田義人</u> 、Abulizi Abudukadier、福島徹、小栗靖生、小倉雅仁、原島伸一、細川雅也、稲垣暢也。メトホルミンはヒト肝癌細胞においてAMPK-DEPTOR-mTORシグナルを介して抗癌作用を発揮する
4	2015年2月	第29回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会. 小栗靖生、 <u>藤田義人</u> 、Abulizi Abudukadier、小原章央、大橋晶子、古谷太志、福島徹、長谷川宏幸、細川雅也、稲垣暢也。テトラヒドロピオプテリンの糖・脂質およびエネルギー代謝制御機構への関与の検討。
5	2015年1月	第18回日本病態栄養学会年次学術集会. 小栗靖生、 <u>藤田義人</u> 、Abulizi Abudukadier、小原章央、古谷太志、大橋晶子、福島徹、長谷川宏幸、細川雅也、稲垣暢也。eNOS補酵素テトラヒドロピオプテリンが糖およびエネルギー代謝に与える影響についての検討
6	2014年10月	第29回日本糖尿病合併症学会. <u>藤田義人</u> 、小栗靖生、古谷太志、鶴山竜昭、屋山勝俊、Abulizi Abudukadier、小原章央、大橋晶子、福島徹、長谷川宏幸、稲垣暢也。eNOS補酵素テトラヒドロピオプテリンの糖尿病腎症発症機序への関与の解明
7	2014年6月	American Diabetes Association 74th Scientific Sessions. A. Obara, <u>Y. Fujita</u> , A. Abudukadier, T. Fukushima, Y.Oguri, M. Hosokawa, N. Inagaki. DEPTOR, an Inhibitory Protein of mTOR, Contributes to Both Anti-cancer and Antidiabetic Effects of Metformin in Liver.
8	2014年5月	第57回日本糖尿病学会年次学術集会. 小原章央、 <u>藤田義人</u> 、Abulizi Abudukadier、福島徹、小栗靖生、細川雅也、稲垣暢也。メトホルミンの抗癌作用および肝糖新生抑制作用に共通して関与するAMPK-DEPTOR-mTORシグナルの解明
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1		