

研究助成 2015—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	山根 俊介
研究テーマ	脂肪酸結合タンパクを介した GIP 分泌機序の解明

- ・ 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)

背景・目的

Gastric inhibitory polypeptide (GIP) は小腸に存在する腸管内分泌 K 細胞から、糖質や脂肪の経口摂取に反応して分泌されインスリン分泌を促進するインクレチンの一つである。われわれは GIP を産生する K 細胞で有意に高い発現を示す分子として**脂肪酸結合タンパク 5 (fatty acid binding protein 5; FABP5)** を同定し、FABP5 が脂肪誘導性 GIP 分泌に関与していることを報告した。本研究では FABP5 による GIP 分泌制御機構の詳細な解析・解明を目的としている。

研究手法・研究成果

1) 脂肪誘導性 GIP 分泌における FABP5 作用メカニズムの解明

① FABP5 の細胞内局在に関する組織学的検討

経口脂肪負荷前後でマウスの上部小腸を摘出、FABP5 抗体を用いた染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡・免疫電子顕微鏡を用いて、K 細胞内における脂肪負荷後の FABP5 細胞内局在変化を観察した。免疫電顕法による観察で FABP5 は負荷前には K 細胞の核内・細胞質に存在していたが、負荷後一過性に**核内の局在は消失した**。共焦点レーザー顕微鏡による解析でも同様の傾向を認め、経口糖負荷後の観察では、FABP5 の細胞内局在変化は認めなかった。GIP 分泌経路における本現象の意義については今後詳細な検討を要する。

② FABP5 欠損状態における K 細胞の質的変化の検討

慢性的な FABP5 作用の欠失による K 細胞の質的変化を評価するため、FABP5 欠損マウスの K 細胞を回収し、発現プロファイルをマイクロアレイ解析により野生型マウスと比較した。GTPase-activating protein (GAP) としての作用により、G α の活性を負に制御するタンパク群のひとつである **G タンパク質シグナル伝達調節因子 4 (Regulator of G protein signaling 4: RGS4)** の発現が FABP5 欠損マウスの K 細胞で野生型マウスの K 細胞よりも有意に高く、real-time PCR による検討でも同様の結果であった。FABP5 が、脂肪酸受容体の下流シグナルを RGS4 を介して制御している可能性が示唆された。

2) 脂質による GIP 分泌における胆汁および脂肪酸受容体の関与に関する検討

既報において申請者らは、脂肪摂取による GIP 分泌には胆汁が必須であることを報告したが、その詳細な機序に関しては未解明である。また別の報告において長鎖脂肪酸受容体である GPR120 と GPR40 が K 細胞にも発現していることを確認したが、脂肪摂取時 GIP 分泌における GPR120、GPR40 の役割に関しては未検討であった。GPR120 ノックアウトマウス (GPR120KO)、GPR40 ノックアウトマウス (GPR40KO) にコーン油を経口摂取させた際の GIP 分泌を測定したところ、野生型マウス (WT) に比べて、それぞれ 50%、20%に低下していた。また GPR120KO、GPR40KO では WT と比べ、脂肪摂取後の CCK 分泌の有意な低下と胆嚢収縮の障害を認めた。CCK アナログの投与により、GPR120KO ではコーン油摂取時の GIP 分泌が野生型マウスと同等に上昇したのに対し、GPR40KO では変化がなかった。これらの結果から、GPR120 と GPR40 は双方ともコーン油摂取時の GIP 分泌に関与しているがその機序は異なり、**GPR120 は CCK 分泌・胆汁分泌を介して間接的に GIP 分泌を制御している**ことが示唆された (Sankoda A et al., *Endocrinology*. Epub ahead of print 2017)。

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	2017/5/18-20	第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会 (名古屋) 池口絵理 渋江公尊 Yotsapon Thewjitcharoen <u>山根俊介</u> 原田範雄 原田貴成 藤原雄太 鈴木和代 大和田祐二 稲垣暢也 脂肪酸結合タンパク 5 (FABP5) の腸管内分泌 K 細胞における局在に関する検討
2	2017/5/18-20	第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会 (名古屋) 桑原智子 原田範雄 金丸良徳 <u>山根俊介</u> 村田由貴 三小田亜希子 岩崎可南子 城尾恵里奈 渋江公尊 原田貴成 池口絵理 藤原雄太 稲垣暢也. 過食肥満下におけるインクレチン GIP の生体内への影響について
3	2017/5/18-20	第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会 (名古屋) 三小田亜希子 原田範雄 岩崎可南子 <u>山根俊介</u> 村田由貴 金丸良徳 鈴木和代 渋江公尊 原田貴成 城尾恵里奈 平澤明 稲垣暢也. 長鎖脂肪酸受容体 GPR120 と GPR40 は異なる機序で脂肪摂取時の GIP 分泌に関与する
4	2017/5/12	3rd Korea-Japan Diabetes Forum (釜山) <u>Shunsuke Yamane</u> . FABP5 is an essential modulator of fatty acid-induced GIP secretion in enteroendocrine K cells
5	2017/4/1	ENDO2017 (Orlando, Florida) Kimitaka Shibue, Yotsapon Thewjitcharoen, <u>Shunsuke Yamane</u> , Norio Harada, Takanari Harada, Yuta Fujiwara, Kazuyo Suzuki, Yu Wang, Keiko Furuta, Yuji Owada, Nobuya Inagaki. Subcellular Translocation of Fatty Acid-Binding Protein 5 (FABP5) in Glucose-Dependent Insulinotropic Polypeptide (GIP)-Producing K-Cells: Re-Emerging Role of Transmission Electron Microscope
6	2017/3/3-4	Asia Islet Biology and Incretin Symposium (AIBIS) Sankoda A, Harada N, Iwasaki K, <u>Yamane S</u> , Murata Y, Shibue K, Thewjitcharoen Y, Suzuki K, Harada T, Kanemaru Y, Shimazu-Kuwahara S, Hirasawa A, Inagaki N. Long chain free fatty acid receptor GPR120 mediates oil-induced GIP secretion through CCK in mice.
7	2017/3/3-4	Asia Islet Biology and Incretin Symposium (AIBIS) Harada N, <u>Yamane S</u> , Inagaki N. Role of gastric inhibitory polypeptide (GIP) in high fat diet-induced obesity and insulin resistance.
8	2016/5/19-21	第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会 原田範雄 <u>山根俊介</u> 稲垣暢也. Effect of fat intake on GIP secretion from enteroendocrine K cells
9	2016/5/19-21	第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会 桑原智子 原田範雄 金丸良徳 村田由貴 <u>山根俊介</u> 鈴木和代 岩崎可南子 三小田亜希子 渋江公尊 原田貴成 藤原雄太 稲垣暢也 エストロゲン欠損下の GIP 分泌抑制が体重、耐糖能、骨量に及ぼす影響について
10	2016/5/19-21	第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会 鈴木和代 岩崎可南子 村田由貴 原田範雄 <u>山根俊介</u> 浜崎暁洋 渋江公尊 城尾恵里奈 三小田亜希子 藤原雄太 林良敬 稲垣暢也 グルカゴン GIP ノックインマウスを用いた腸管内分泌 L 細胞の局在による性質の差異についての検討

11	2016/5/19-21	第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会 城尾恵里奈 原田範雄 山根俊介 福島徹 田浦大輔 岩崎可南子 渋江公尊 三小田亜希子 村田由貴 鈴木和代 浜崎暁洋 稲垣暢也. 脂肪組織における G I P シグナルは、高脂肪食摂取下のインスリン抵抗性や脂肪肝の形成に関与する
12	2016/5/19-21	第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会 三小田亜希子 原田範雄 山根俊介 岩崎可南子 渋江公尊 城尾恵里奈 金丸良徳 村田由貴 桑原智子 鈴木和代 稲垣暢也. 腸管オルガノイドに発現する G I P 分泌 K 細胞の同定と評価
13	2016/5/19-21	第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会 渋江公尊 Thewjitcharoen Yotsapon 山根俊介 原田範雄 原田貴成 藤原雄太 鈴木和代 大和田祐二 稲垣暢也. 脂肪酸結合タンパク FABP5 を介した G I P 分泌制御機構の解明-免疫電顕法を用いた腸管内分泌 K 細胞の微細形態評価に関する研究
14	2016/5/19-21	第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会 村田由貴 原田範雄 岩崎可南子 山根俊介 金丸良徳 三小田亜希子 渋江公尊 原田貴成 城尾恵里奈 桑原智子 鈴木和代 稲垣暢也. G I P 分泌を介した中鎖脂肪酸トリグリセリドの体重や糖代謝への影響についての検討

3. 投稿、発表予定

	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1		
2		
3		
4		