The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Modulation of the JNK Pathway in Liver Affects Insulin Resistance Status
Author(s)	中谷, 嘉寿
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45448
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【16】

氏　　名	中谷嘉寿（なかたに よしひさ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　１９２４９　号
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学位論文名	Modulation of the JNK Pathway in Liver Affects Insulin Resistance Status （肝臓での JNK 経路はインスリン抵抗性に影響を及ぼす）
論文審査委員	（主査） 教授　堀　　正二 （副査） 教授　谷口　直之　　教授　下村伊一郎

論文内容の要旨

〔目的〕

c-Jun N-terminal kinase (JNK) はサイトカインや酸化ストレスのような様々なストレスシグナルによって活性化され、糖尿病状態では様々な臓器で上昇していることが知られている。また JNK 活性は酸化ストレスによるインスリン転写因子の減少に関与し、JNK 経路の抑制で糖毒性から膵β細胞を保護することも知られている。本研究においては、２型糖尿病患者の病態の特徴であるインスリン抵抗性と JNK 経路の関与について検討した。

〔方法及び成績〕

1、正常血糖モデルマウス C57B6（８週齢）に WT-JNK アデノウイルス（Ad-WT-JNK）を頚静脈より投与し、普通食にて飼育後約１ケ月間随時血糖値を経過観察した。Ad-WT-JNK を投与したマウス群（C57B6 マウス）、及び GFP アデノウイルス（Ad-GFP）を投与したマウス群の２群間では、随時血糖値に有意差を認めなかった。アデノウイルス投与２週間後に耐糖能評価のためゲルコース負荷テストを施行するも２群間で有意差を認めなかった。また空腹時血糖値は２群間で有意差ないも、インスリン値では Ad-GFP 投与群に比して Ad-WT-JNK 投与群で有意に高値を認めた。これよりインスリン抵抗性により代償的にインスリン濃度が上昇していることが考えられた。そのため安定同位体を用いた正常血糖高インスリンクランプテストを行いインスリン抵抗性評価（肝臓や筋肉などのインスリン抵抗性臓器での詳細評価）した。正常血糖高インスリンクランプテストでは安定期 90-120 分間の平均 GIR（ブドウ糖注入率）58.0±14.6 versus 73.7±3.2 mg/kg/min（Ad-WT-JNK versus Ad-GFP）とインスリン抵抗性を認めた。更に安定期 90-120 分間の平均 HGP（肝臓からの糖新生）18.2±3.1 versus 6.4±3.3 mg/kg/min（Ad-WT-JNK versus Ad-GFP）と肝臓でのインスリン抵抗性の関与を認めた。ただし、筋肉での糖利用率（糖消失率）は２群間で有意差を認めなかった。また糖代謝に関与するメカニズム（インスリンシグナルや肝臓の糖新生系）を検討した。Ad-WT-JNK 投与群は Ad-GFP 群に比して JNK によって直接 IRS-1 ser307 リン酸化が亢進し、その結果 IRS-1 tyrosine リン酸化の減少、下流の AKT リン酸化の減少を認めインスリンシグナルの減少し、糖新生系の key 酵素である G6Pase や PEPCK も Ad-WT-JNK 役与群は Ad-GFP

投与群に比して軽度亢進した。

2、２型糖尿病モデルである C57Ksj-db/db マウス（８週齢）に DN-JNK アデノウイルス（Ad-DN-JNK）を頸静脈より投与し、普通食にて飼育後約１ケ月間随時血糖値を経過観察した。Ad-GFP 投与した群（Ksj-db/db マウス）の随時血糖値は継続的に血糖上昇を認めた。一方 Ad-DN-JNK を投与したマウス群は、アデノウイルス投与２、３日後より血糖値の低下を認め、投与２週間で随時血糖値 405±42 mg/dl から 211±30 mg/dl まで低下した。またアデノウイルス投与２週間でのインスリン負荷テストでも Ad-DN-JNK 投与群は Ad-GFP 投与群に比して有意に低下反応を認めた。更にインスリン抵抗性評価のため安定同位体を用いた正常血糖高インスリンクランプテストを行い検討したところ、平均 GIR20.8±2.4 versus 10.1±2.6 mg/kg/min（Ad-DN-JNK versus Ad-GFP）とインスリン抵抗性の改善を認めた。更に平均 HGP24.0±4.2 versus 38.0±3.9 mg/kg/min（Ad-DN-JNK versus Ad-GFP）と肝臓での糖産生抑制を認め、血糖低下は肝臓でのインスリン抵抗性の改善が大きく関与していることを認めた。ただし、筋肉での糖利用率（糖消失率）は２群間で有意差を認めなかった。また Western blot analysis によるインスリンシグナルの解析では、Ad-DN-JNK 投与群は Ad-GFP 投与群に比して、直接 IRS-1 ser307 リン酸化が減少し、その結果 IRS-1 tyrosine リン酸化の増加、下流の AKT リン酸化の増加を認めインスリンシグナルが亢進していた。Northern blot analysis による肝臓の糖新生系の解析では、G6Pase や PEPCK 発現は Ad-DN-JNK は Ad-GFP に比して著明な減少を認めた。

3、正常血糖モデルである C57B6 マウス（８週齢）に Ad-DN-JNK を頸静脈より投与し、高脂肪高シュークロース食にて飼育後１ケ月間随時血糖値を経過観察した。随時血糖値では２群間で有意差を認めなかった。しかしアデノウイルス投与４週間後に耐糖能評価のためグルコース負荷テスト施行し検討したところ、Ad-GFP を投与したマウス群は耐糖能障害を認めたが、Ad-DN-JNK を投与したマウス群では耐糖能障害の一部改善を認めた。

〔総括〕

糖尿病状態では JNK が活性されており、アデノウイルスにより肝臓での JNK 活性を抑制することで肝インスリン抵抗性が改善し、耐糖能障害を著明に改善することが示唆された。また糖代謝において、肝臓は全身に対して重要な役割を占める臓器であることも改めて示唆された。以上より２型糖尿病患者に対して JNK を標的としたインスリン抵抗性改善療法が糖尿病進展阻止に向けた分子治療の新たなるターゲットとなりえることが示された。

論文審査の結果の要旨

現在世界的に糖尿病患者は爆発的に増加し、この疾患に対する早急な対応に迫られているが、従来の治療は厳格な血糖コントロールにより合併症を予防、進展抑制することに主眼が置かれていた。しかし近年過剰な食事摂取により肥満になり、また遊離脂肪酸、酸化ストレスやサイトカインなど様々な因子が増加し、２型糖尿病患者の病態の特徴であるインスリン抵抗性が惹起されていることが問題となっているもその背景にある分子メカニズムは明らかではない。本研究において申請者は、インスリン抵抗性の分子メカニズムの一端として、c-Jun N-terminal kinase (JNK) 経路の関与について検討を行った。正常マウスの肝臓に JNK を過剰発現させると、肝インスリンシグナルの減弱や肝糖新生系が亢進し、その結果インスリン抵抗性が惹起されることを明らかにした。また糖尿病状態では JNK 経路が活性化されており、肥満２型糖尿病モデルマウスや高カロリー摂取による糖尿病モデルマウスの肝臓で JNK 経路を抑制すると肝インスリンシグナルの増強や肝糖新生系が低下し、その結果著明にインスリン抵抗性および耐糖能が改善されることを明らかにした。以上より、JNK 経路はインスリン抵抗性および糖尿病状態において重要な役割を担っていることを新規に同定した。この研究の成果はインスリン抵抗性のメカニズム解明の糸口となり、従来の糖尿病治療法に加えて新たな治療ターゲットの開発に貢献すると考えられ、博士（医学）の学位授与に値すると考えられる。