Osaka University Knowledge Archive

Title	Sustained expression of GLP-1 receptor differentially modulates βcell functions in diabetic and nondiabetic mice
Author(s)	久保, 典代
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/55820
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	久保　典代
論文題名 Title	Sustained expression of GLP-1 receptor differentially modulates β cell functions in diabetic and nondiabetic mice (GLP-1受容体の恒常的発現は肥満糖尿病モデルマウスのβ細胞不全を増悪させる)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

2型糖尿病患者および糖尿病モデル動物の膵島ではGLP-1受容体(Glp1r)の発現レベルが低下していることが報告されている。また、日常臨床においてインクレチン製剤に対するnon-responderが存在することが知られており、その原因としてGlp1rの発現レベルの多寡が関与している可能性がある。以上の背景をもとに、①*db/db*マウスの膵島においてGlp1rの発現量低下が耐糖能異常進展のどの段階から起きているのか、②糖尿病状態で低下したGlp1rの発現量を維持する事で耐糖能異常が改善するか、の2点について検討した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

①4、8、12週齢の*db/db*マウスの膵島を単離し、TaqMan PCR arrayを用いて膵臓特異的遺伝子のmRNA量を経時的に定量化した。その結果、*db/db*マウスの膵島におけるGlp1rとGIP受容体のmRNA発現量は、正常血糖の4週齢ではコントロール*db/m*マウスとほぼ同程度であったが、血糖値が上昇する8、12週齢で著しく低下していた。一方、*Gcgr*、*Insr*の発現量はいずれの週齢でも*db/m*マウスと*db/db*マウス間に有意差は認められなかった。

②糖尿病状態で低下したGlp1rの発現量を維持する事で耐糖能異常が改善するか検討をするため、Cre/loxPシステムを用いてβ細胞特異的かつ誘導性にGlp1rを発現する遺伝子改変マウス*Pdx1*^{PB}-*CreER*^{TM}(*βGlp1r*マウス)を作製し、*db/db*マウスと交配した(*βGlp1r;db/db*マウス)。12週齢の*βGlp1r;db/db*マウスの膵島では*Glp1r*の発現量が同週齢の*db/m*マウスと同程度まで回復していることを確認した。

非糖尿病*βGlp1r;db/m*マウスの耐糖能は対象*db/m*マウスとほぼ同程度であり、外因性に導入した*Glp1r*が非糖尿病*db/m*マウスの耐糖能に影響を与えないことが分かった。一方で糖尿病*βGlp1r;db/db*マウスにOGTTを施行したところ、コントロール*db/db*マウスと比べ血糖値の有意な上昇と血清インスリン値の有意な低下を認め、Glp1rの恒常的な発現が糖尿病*db/db*マウスの耐糖能を悪化させることが分かった。続いてGlp1rシグナルのさらなる活性化が糖尿病マウスの耐糖能を改善させるかどうか検討するため、*βGlp1r;db/db*マウスにGLP-1アナログであるexendin-4を4週間投与し、耐糖能の評価を行った。Exendin-4投与により、OGTTにおける血糖値、血清インスリン値は*βGlp1r;db/db*マウス、コントロール共に有意に改善した。特に*βGlp1r;db/db*マウスの血清インスリン値は、exendin-4投与により対象マウスと比べ著しく増加しており、Glp1rの恒常的発現がexendin-4によるインスリン分泌反応を促進することが見出された。さらに*βGlp1r;db/db*マウスのβ細胞障害の機序を検討するため、組織学的検討を行った。*βGlp1r;db/db*マウスの膵島量は少ない傾向にあり、Ki67陽性細胞率は減少、TUNEL陽性細胞率は増加していた。これらの結果より、GLP-1受容体発現量の維持とそのシグナルの活性化は、β細胞における細胞増殖減少とアポトーシス増加によって糖尿病*db/db*マウスのβ細胞障害を増悪させることが示唆された。

〔考察(Discussion)〕

*db/db*マウスの膵β細胞におけるGlp1rの発現量は、血糖の悪化と共に低下していた。血糖悪化に先行したGlp1rの低下は今回確認できておらず、また糖毒性の軽減が*db/db*マウス膵島におけるGlp1r発現量を著明に増加するという報告がある事から、膵島におけるGLP-1受容体発現量の低下は、高血糖の原因というよりは結果と考えられた。

また、糖尿病状態において減少しているGlp1rの発現維持が*db/db*マウスのβ細胞障害に保護的に働く可能性を検証したところ、Glp1rを恒常的に発現させた*db/db*マウスではインスリン分泌不全の増悪を認め、当初の予想に反する結果であった。非糖尿病マウスではGlp1rの過剰発現が耐糖能に悪影響を及ぼさないことから、*db/db*マウスにおける慢性の高血糖やレプチンシグナルの欠如が外因性Glp1r発現による耐糖能悪化に影響を与えている可能性が考えられる。また、Glp1r発現量が耐糖能悪化に伴い低下することを合わせて考えると、肥満糖尿病モデルマウスで認められるGLP-1受容体の発現低下は、糖尿病状態におけるβ細胞不全の急速な進行を防ぐために必要な機序である可能性が示唆された。

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）久保　典代

		（職）	氏　　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	下村伊一郎
	副　査	大阪大学教授	中神啓徳
	副　査	大阪大学教授	宮崎純一

論文審査の結果の要旨

本研究では、糖尿病*db/db*マウスの膵島におけるGlp1r発現量の経時的評価と発現量と耐糖能の関連について検討した。まず、db/dbマウスの膵島におけるGLP-1受容体の発現量は、非糖尿病db/+mマウスと比べ週齢と共に低下していることが明らかとなった。次に、GLP-1受容体の発現量を維持する事で耐糖能異常が改善するのか、β細胞特異的にGlp1rを発現する遺伝子改変*db/db*マウスを新規に作製し、検討を行った。その結果、同マウスにおけるOGTTで血糖値の上昇とインスリン分泌の低下を認め、Glp1rの恒常的な発現が*db/db*マウスの耐糖能を悪化させることが示唆された。一方でGlp1rの恒常的発現がexendin-4によるインスリン分泌反応を促進することも見出された。
以上より、糖尿病状態におけるβ細胞内GLP-1受容体の量的制御の重要性が示され、学位の授与に値すると考えられる。