

## 糖尿病モデルMeg1/Grb10遺伝子導入マウスの血漿成分について

山本美江<sup>1,2)</sup>・鈴木 治<sup>2)</sup>・山田一内尾こずえ<sup>2)</sup>・石野一金児智子<sup>3)</sup>・松田潤一郎<sup>4)</sup>・佐藤勝紀<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 岡山大学大学院自然科学研究科・<sup>2)</sup> 国立感染症研究所獣医科学部

<sup>3)</sup> 東海大学健康科学部・<sup>4)</sup> 独立行政法人 医薬基盤研究所

### 【背景】

*Meg1/Grb10*は母方由来のインプリンティング遺伝子で、この遺伝子は胎児の過成長を抑制すると共にインスリン、インスリン様成長因子のシグナル経路の受容体への結合を阻害する<sup>1,2)</sup>。この阻害の過程は複雑で、グルコース代謝と成長の影響は明確ではない。2型糖尿病は肥満から糖尿病を発症すると考えられており、*Meg1*マウスは通常飼料では肥満を伴わないが、高カロリー飼料を摂取することによりグルコース代謝の異常によって糖尿病を発症することが知られている<sup>3,4)</sup>。

### 【目的】

*Meg1/Grb10*遺伝子導入マウス (*Meg1*マウス)はインスリンのシグナル伝達阻害によるインスリン抵抗性を呈することから2型糖尿病モデルと考えられている。高カロリー・高脂肪飼料QF(クイックファット、日本クレア株)を用いて飼育することにより糖尿病の発症割合が増加する<sup>3)</sup>。本研究は糖尿病発症機序の解明を目的として*Meg1*マウスを高カロリー・高脂肪飼料を給餌した場合に*Grb10*遺伝子の影響によって引き起こされるインスリンのシグナル伝達阻害の影響について糖尿病発症に関連するとみられる血漿成分の分析値から検討した。

### 【材料および方法】

*Meg1*マウスの雄 (TG+) およびコントロールとしてその親系統 (C57BL/6N; TG-) の雄を用いた。4週齢から上記の糖尿病促進飼料QFによって飼育した10~15週齢の動物を一晚絶食させ、屠殺したのち血漿を採取し、糖尿病に関連すると思われる血中成分のインスリン、IGFの値をELISA法を用いて測定し、また、一般健康診断に用いられるBUN(尿素窒素)、血中アンモニア、中性脂肪、総コレステロール、GOTの各値を富士ドライケム3000により測定した。さらに、内臓脂肪と肝臓の重量を測定し、肝臓重量は体重に対する割合でも示した。

### 【結果】

血漿中のIGF値はTG+ (334.6±103.9ng/ml) がTG- (945.1±734.7ng/ml)、BUN値はTG+ (19.3±3.7mg/dl) がTG- (22.0±2.6mg/dl) より共に有意に低く、これに対して、中性脂肪量はTG+ (202.0±70.2mg/dl) がTG- (146.3±35.1mg/dl) より有意に高かった。インスリン値 (152.4±46.3 vs. 88.0±44.7pg/ml)、アンモニア量 (280.8±152.7 vs. 223.1±103.4μg/dl) および肝臓重量はTG+ (1056.5±277.7mg) がTG- (936.2±93.5mg) で増加傾向が認められた。内臓脂肪量 (376.7±78.5 vs 486±94.2mg/dl) およびコレステロール値 (131.4±22.7 vs. 130.5±15.7mg/dl) は個体差が大きいため、TG+とTG-の間には有意差は見られなかった。しかしながら、肝臓重量は体重で補正した場合、TG+では有意に増加した。上記のように、*Meg1*マウスでは血中のアンモニア量と尿素窒素の増加が認められたことから、肝臓への障害が予測された。

### 【考察】

IGF-1の減少はインスリン伝達経路において*Grb10*がインスリン受容体への結合を阻害していることの証明といえる。高インスリン血症は*Meg1*マウスにおけるインスリン抵抗性の結果と考えられる。加えて中性脂肪の増加も呈する点は、ヒト2型糖尿病の特徴に類似している。グルコース代謝経路のシグナル伝達の阻害によるインスリン抵抗性の増加は複雑な過程であるが、糖尿病発症機序の解明モデルとしての*Meg1*マウスの有用性を示している。BUN値の減少と血中アンモニア量の微増は*Meg1*マウスの肝臓重量の増加とともに糖の取り込み過剰によっておこるインスリン抵抗性による悪影響を示唆している。

### 【要約】

2型糖尿病は肥満から糖尿病を発症すると考えられており、*Meg1*マウスは通常飼料では肥満を伴わないが、高カロリー飼料を摂取することによりグルコース代謝の異常によって糖尿病を発症す

る。*Megl/Grb10*遺伝子導入マウス (*Megl*マウス) はインスリンのシグナル伝達阻害によるインスリン抵抗性を呈することから2型糖尿病モデルと考えられている。本研究は、糖尿病発症機序の解明を目的として、*Megl/Grb10*遺伝子導入マウス (*Megl*マウス、TG+) とコントロールのマウス (*Megl*マウスの親系統であるC57BL/6N; TG-) の雄を用いて高カロリー・高脂肪飼料を給餌した場合のグルコース代謝におけるシグナル伝達阻害の影響について血漿成分の面から検討した。その結果、血漿中のIGF、BUN値はいずれもTG+がTG-より有意に低く、一方、中性脂肪量はTG+がTG-より有意に高かった。*Megl*マウスで認められたインスリン値の増加とIGF-1値の減少はインスリン伝達経路において*Grb10*がインスリン受容体への結合を阻害していることの証明といえる。*Megl*マウスにおける高インスリン血症はインスリン抵抗性の結果と考えられる。

本研究は、東京医科歯科大学石野史敏教授との共同研究である。

## 【文 献】

- 1) Hikichi T, Kohda T, Kaneko-Ishino T and Ishino F. Imprinting regulation of the murine *Megl/Grb10* and human GRB10 genes ; roles of brain-specific promoters and mouse-specific CT CF-binding sites. *Nucleic Acids Res.* 31(5) : 1398-406. 2003.
- 2) Miyoshi N, Kuroiwa Y, Kohda T, Shitara H, Yonekawa H, Kawabe T, Hasegawa H, Barton SC, Surani MA, Kaneko-Ishino T and Ishino F. Identification of the *Megl/Grb10* imprinted gene on mouse proximal chromosome 11, a candidate for the Silver-Russell syndrome gene. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 95 (3) : 1102-1107. 1998.
- 3) 山本美江・鈴木 治・山田一内尾こずえ・石野一金児智子・松田潤一郎・佐藤勝紀 高脂肪・高カロリー飼料が*Megl/Grb10*遺伝子導入マウスの糖尿病発症に及ぼす影響 岡山実験動物研究会報 21:35-37. 2004.
- 4) Shiura H, Miyoshi N, Konishi A, Wakisaka-Saito N, Suzuki R, Muguruma K, Kohda T, Wakana S, Yokoyama M, Ishino F and Kaneko-Ishino T *Megl/Grb10* overexpression causes postnatal growth retardation and insulin resistance via negative modulation of the IGF1R and IR cascades *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 329 : 909-916. 2005.

表1 *Megl*マウスとコントロールマウスの体重、肝臓、内臓脂肪の重量の比較と血漿中のIGF-1、インスリン、尿素窒素、アンモニア、中性脂肪、総コレステロールの値。

No.of mice	<i>Megl</i> 10	Control 10	Pd
体 重 (g)	20.0 ± 1.7 <sup>a</sup>	24.3 ± 1.0	<0.05
内臓脂肪重量 (mg)	376.7 ± 78.5	486.0 ± 94.2	<0.05
肝 臓 重 量 (mg)	1056.5 ± 277.7	936.2 ± 93.5	
肝臓重/体重 (mg/g)	44.9 ± 2.1	41.2 ± 1.3	<0.05
インスリン (pg/ml)	152.4 ± 46.3	88.0 ± 44.7	
I G F - 1 (ng/ml)	334.6 ± 103.9	945.1 ± 734.7	<0.05
尿 素 窒 素 (mg/dl)	19.3 ± 3.7	22.0 ± 2.6	<0.05
N H 3 (μg/dl)	280.8 ± 152.7	223.1 ± 103.4	
中 性 脂 肪 (mg/dl)	202.0 ± 70.2	146.3 ± 36.1	<0.05
総コレステロール (mg/dl)	131.4 ± 22.7	130.5 ± 15.7	

a M±SD

1晩絶食後採材