

氏 名 内田 邦敏

学位（専攻分野） 博士（理学）

学位記番号 総研大甲第 1360 号

学位授与の日付 平成 22 年 3 月 24 日

学位授与の要件 生命科学研究科 生理科学専攻
学位規則第 6 条第 1 項該当

学位論文題目 Temperature and Metabolism

論文審査委員 主 査 教授 深田 正紀
教授 鍋倉 淳一
教授 斉藤 昌之（天使大学）

Organisms live by sensing information on temperature either consciously or unconsciously. In particular, homeothermic animals live by adapting to changes in ambient temperature in order to keep their body temperature constant. To clarify the importance of detecting temperatures in animals, he investigated the effects of slight reductions in ambient temperature (Chapter 1) and the involvement of the thermosensor TRPM2 (activated around body temperature) on pancreatic function (Chapter 2).

1. Metabolic adaptation of mice in a cool environment

Homeothermic animals, including humans, live by adapting to changes in ambient temperature. Numerous studies have demonstrated cold exposure to approximately 5°C improves glucose tolerance, despite a reduction in insulin secretion and increased energy expenditure. To determine the effects of a small reduction in ambient temperature on energy metabolism, he compared two groups of mice; one exposed to a cool environment (20°C) and the other maintained in a near-thermoneutral environment (25°C) for 10 days. Both glucose-induced insulin secretion and glucose response were impaired significantly in mice exposed to a cool environment. In the cool temperature-exposed mice, skin temperatures were reduced and plasma norepinephrine levels were increased, suggesting that impairment of insulin secretion was facilitated by induction of sympathetic nervous activity due to skin cooling. In addition, in these mice expression of GLUT4 mRNA was increased significantly in inguinal subcutaneous adipose tissue (IWAT), but not in epididymal or brown adipose tissue, or skeletal muscle. Moreover, expression of Dok1, a molecule linked to activation of insulin receptors in adipocyte hypertrophy, and Cd36, a molecule related to NEFA uptake, were also increased at the mRNA and/or protein level only in IWAT of the cool temperature-exposed mice. Fatty acid synthesis was also facilitated and fat weights were increased only in IWAT from mice kept at 20°C. These results suggest that a small reduction in ambient temperature can affect glucose homeostasis through regulation of insulin secretion and preferentially enhances fat storage in IWAT. These adaptations can be interpreted as preparation for a further reduction in ambient temperature.

2. TRPM2 is a key player in insulin secretion

TRPM2 is a Ca²⁺ permeable non-selective cation channel activated by adenosine dinucleotides. They revealed previously that TRPM2 is activated by co-application of heat and intracellular cyclicadenosine 5'-diphosphoribose (cADPR), which has been reported as a secondary messenger for increasing intracellular calcium in immunocytes and pancreatic β-cells. They also showed that TRPM2 is expressed in pancreatic β-cells and is involved in incretin-stimulated insulin secretion. Studies in TRPM2 knock-out (TRPM2-KO) mice showed TRPM2 was involved in insulin secretion. In these mice, blood glucose levels were higher than those in wild-type (WT) mice without any change in plasma insulin levels. Glucose tolerance tests, using oral or intraperitoneal administration of glucose, demonstrated that blood glucose levels in TRPM2-KO mice were higher

than those in WT mice and were associated with an impairment in insulin secretion. In isolated β -cells, TRPM2-KO cells responded to high concentrations of glucose to a lesser extent than WT cells. Moreover, insulin secretion from islets of TRPM2-KO mice induced by glucose and incretin hormones was also impaired. On the other hand, responses to tolbutamide, an ATP-sensitive potassium (K_{ATP}) channel inhibitor, were not different between the two groups. These results suggest that TRPM2 is involved in insulin secretion induced by both glucose and incretin hormones independent of the K_{ATP} channel-mediated pathway and therefore may be a potentially new target for diabetes therapy.

生物は個体の恒常性を維持するために巧妙に外界温度を感知し、その変化に的確に順応する仕組みを有している。しかし、どのような分子機構で温度受容がなされ、個体の代謝機能を変化させ、恒常性を維持しているかは殆ど不明である。本研究ではマウスをモデル動物として、下記2点を明らかにした。

(1) まず“5度”という比較的わずかな環境温度の低下(冷涼環境: Cool-temperature exposure)が膵臓機能(特にインスリン分泌能)や糖・脂質代謝に対してどのような影響を及ぼすかについて検討した。これまで摂氏約4-10度までの寒冷暴露(Cold exposure)が代謝調節に与える影響に関する研究は多数なされてきたが、5度という比較的わずかな環境温度の低下が個体にどのような影響を及ぼすかに関しては温度管理が難しいという点で解析されてこなかった。そこで、“5度”というわずかな環境温度の変化を厳格に管理することができる飼育器を構築し、厳密な温度管理下で実験を行った。環境温度25度と20度という2種類の環境下でマウスを10日間飼育し、各群の個体機能の解析を行った。その結果、5度の環境温度の低下が、交感神経緊張(血中ノルエピネフリン濃度上昇)→膵島β細胞からのインスリン分泌の低下→血中インスリン濃度の低下と耐糖能異常を引き起こすことを見出した。また、鼠径部白色脂肪組織特異的な脂肪の蓄積をもたらすことを見出した。これら変化は過去の寒冷暴露実験の結果(寒冷暴露でグルコース耐糖能が改善)と異なる点で意義深い。さらに、鼠径部白色脂肪組織では糖・脂質代謝に関わる分子群(GLUT4, Dok1, Cd36)のmRNA・蛋白質発現レベルの上昇、脂肪酸化の亢進が認められた。以上の結果は、わずかな環境温度の低下に対してマウス個体がインスリン分泌を介した糖代謝と鼠径部白色脂肪組織における脂質代謝を変化させることにより環境変化に素早く適応する機構を有していることを示したものである。

(2) 次に、温度感受性TRPM2チャンネルが膵臓機能にどのような影響を及ぼすかについてTRPM2欠損マウスを用いて解析した。TRPM2欠損マウスでは、経口または腹腔内グルコース投与による血糖の上昇が有意に大きく、また、遷延し、その耐糖能異常はインスリン分泌不全によることが観察された。グルコース投与による膵島単離β細胞からの細胞内Ca²⁺イオン濃度の上昇が抑制され、また、高濃度グルコース負荷による膵島からのインスリン分泌が部分的に阻害されることが明らかとなった。TRPM2欠損マウス膵島では、ATP感受性K⁺チャンネル依存的インスリン分泌は正常であった。さらに、TRPM2欠損膵島では、インクレチンホルモンによるグルコース依存的インスリン分泌の亢進が起らなかった。このように、TRPM2がグルコースとインクレチンホルモンを介した経路による膵臓からのインスリン分泌に関わっていることが明らかとなった。以上の結果は、温度感受性受容体TRPM2チャンネルが膵島β細胞においてインスリン分泌に必須の役割を担っていることを示したものである。

本研究は、「温度と代謝」というテーマを掲げ、その相互関係を分子細胞生物学、生理学、マウス遺伝学等、多彩な手法を駆使して解明したものである。よって、本研究が学位論文としてふさわしいものであることに、審査委員全員の意見が一致した。