

令和元年5月24日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K09816

研究課題名(和文) 肝臓 膵 細胞間神経ネットワークによる膵 細胞増殖制御分子機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of molecular mechanisms of beta-cell proliferation by the liver-beta cell inter-organ neuronal network

研究代表者

今井 淳太 (Imai, Junta)

東北大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：80431500

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：肥満モデルマウスにおいて、肝臓 膵 細胞間神経ネットワークを阻害した場合に膵 細胞内FoxM1経路の活性化が阻害され、膵 細胞増殖が抑制されること、高脂肪食を負荷した際の膵 細胞増殖は膵 細胞特異的FoxM1ノックアウトマウスにおいて抑制されることが明らかになった。さらに迷走神経由来神経ペプチドを組み合わせて単離膵島に同時に作用させることで膵 細胞FoxM1経路依存的に増殖が亢進することを発見した。これらの結果から、肥満の進展の際には、迷走神経から複数の神経因子が分泌され、神経因子の作用によって膵 細胞内FoxM1経路が活性化して代償性膵 細胞増殖を促進していることを世界で初めて明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は研究代表者が独自に明らかにした肝臓 膵 細胞間神経ネットワークに着想を得て、膵迷走神経による膵 細胞増殖制御の分子メカニズムを明らかにしたものである。現在のところ、膵 細胞を増量する治療法は存在せず、これは糖尿病根治療法開発が進まない大きな要因となっている。迷走神経由来因子による膵 細胞増殖機構を明らかにしたことで、世界で初めての膵 細胞増量薬の開発につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Previously, we discovered that pancreatic vagal nerve signals, elicited by liver- cell inter-organ neuronal network, play critical roles in triggering compensatory cell proliferation during obesity development. In this project, we explored the molecular mechanism(s) by which vagal signals enhance cell proliferation. The FoxM1 pathway was activated in pancreatic islets of obese mice, and cell proliferation induced by obesity was blocked in cell specific FoxM1 knockout mice. Suppression of the neuronal network blocked activation of cell FoxM1 and thereby suppressed cell proliferation in obese mice. Furthermore, combined treatment of pancreatic islets with pancreatic vagus-producing factors, such as acetylcholine and PACAP/VIP, activated the FoxM1 pathway and enhanced cell proliferation, and these effects were abolished in islets from FoxM1 KO mice. These results demonstrate how vagal signals induce compensatory cell proliferation in obesity settings.

研究分野：代謝学

キーワード：膵 細胞 インスリン 迷走神経

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

肥満などのインスリン抵抗性状態においては代償的に膵β細胞数が増加しインスリン分泌を亢進することによって血糖値の上昇を抑制する機構が働く。この代償性反応は、血糖値の上昇を防ぐ「体に備わった抗糖尿病機構」と考えられる。この機構を解明することは、糖代謝の恒常性維持機構の解明とともに、糖代謝異常の病態を理解する上で重要であり、さらにこの機構を利用して膵β細胞を増量することが可能になれば、糖尿病の様々な病態の根治療法開発にもつながることが期待される。一方、高インスリン血症はさらなる肥満を助長することから、代償性膵β細胞増加の機構を明らかにすることは肥満の病態形成メカニズムの理解にもつながると考えられる。しかしこれまで、なにがきっかけとなってこのような膵β細胞の代償性反応が起こるのかについては不明な点が多かった。研究代表者は、この代償反応が起こる引き金として、神経シグナルや液性因子を介した臓器間ネットワークによる膵β細胞制御機構が重要な役割を担っていることを報告してきた (*Science* 2008, *Diabetes* 2011)。これらのうち、神経シグナルを介した臓器間ネットワークにおいては、肝臓が ERK 経路の活性化を介して肥満の際の全身のインスリン需要の増加を感知することが重要であり、さらに肝臓で感知されたシグナルが内臓神経求心路→中枢神経→迷走神経遠心路→膵β細胞という神経ネットワークを介して膵β細胞の代償性反応を起こすことを世界で初めて示した (*Science* 2008)。またこの臓器間神経ネットワークを”ON”にすることでインスリン欠乏性糖尿病モデルマウスの治療にも成功した (*Science* 2008, *Islets* 2009)。そこでこの神経ネットワークが非常に有望な糖尿病治療の標的になるものと考え、膵迷走神経が膵β細胞に及ぼす効果に着目し検討を進め、いくつかの神経由来因子について膵β細胞増殖が起こる有望な結果を得た。本研究では膵β細胞増殖を起こす膵迷走神経由来因子を同定し、それら因子が膵β細胞増殖を起こす分子メカニズムを明らかにすること、また肥満病態形成におけるそれらのメカニズムの関与を検討することを目的とした。

## 2. 研究の目的

本研究では研究代表者の独自の研究である肝臓—膵β細胞間神経ネットワークについて、特に糖尿病治療法の開発につながると考えられる膵迷走神経が膵β細胞増殖を起こす分子メカニズムを解析することを目指した。またこのメカニズムの肥満における意義を明らかにするために(1)迷走神経による膵β細胞増殖制御における FoxM1 の意義の解明、(2)膵β細胞増殖を起こす膵迷走神経由来因子の同定、(3)肥満状態での膵β細胞増殖における FoxM1 の意義の解明、を研究目的とした。

### (1) 迷走神経による膵β細胞増殖制御における FoxM1 の意義の解明

研究代表者はそれまでの検討から遺伝子導入による肝臓 ERK 活性化によって神経ネットワークを”ON”にしたマウスの膵島で細胞増殖に関連する転写因子である FoxM1 経路が活性化していることを見出ししていた。そこで神経ネットワークを”ON”にしたマウスにおいて神経切断などによって神経ネットワークを阻害した際の膵β細胞 FoxM1 経路の変化を解析した。また、膵β細胞特異的 FoxM1 ノックアウトマウスを作成し、このマウスで神経ネットワークを”ON”にした際の膵β細胞増殖の変化を検討した。これらにより迷走神経による膵β細胞増殖における FoxM1 経路の意義を明らかにすることを目指した。

### (2) 膵β細胞増殖を起こす膵迷走神経由来因子の同定

膵迷走神経末端から分泌されることが知られている因子をマウスやラットの単離膵島

に作用させた際の膵β細胞増殖を検討した。研究開始時にいくつかの神経因子について膵β細胞増殖が起こる有望な結果を得ており、本研究において膵β細胞増殖を起こす迷走神経由来因子を同定することを目指した。また同定した神経因子を上記ノックアウトマウスの膵島に作用させた際の膵β細胞増殖を検討することで、神経因子による膵β細胞増殖機構における FoxM1 の意義を直接的に明らかにする実験を行った。

### (3) 肥満状態での膵β細胞増殖における FoxM1 の意義の解明

この神経ネットワークは肥満の際の代償性膵β細胞増殖に関与していることから、肥満モデルマウスにおける膵β細胞内 FoxM1 経路がどのように変化しているのかを解析した。さらに肥満モデルマウスにおいて神経ネットワークを阻害した場合に膵β細胞内 FoxM1 経路の変化を検討した。また膵β細胞特異的 FoxM1 ノックアウトマウスに高脂肪食を負荷した際の膵β細胞増殖を検討した。これらにより肥満での迷走神経による膵β細胞増殖制御における FoxM1 の意義を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 迷走神経による膵β細胞増殖制御における FoxM1 の意義の解明

それまでの検討で神経ネットワークを”ON”にしたマウスの膵島で FoxM1 の標的遺伝子の発現が著明に増加していたことから、迷走神経シグナルによって膵β細胞 FoxM1 経路が活性化することが示唆されていた。そこでアデノウイルスによる活性型 MEK 1 遺伝子導入によって神経ネットワークを”ON”にしたマウスにおいて膵迷走神経切断を行い、神経ネットワークを阻害した際の膵β細胞 FoxM1 経路が抑制されるかを観察した。また、膵β細胞特異的 FoxM1 ノックアウトマウスを作成し、このマウスで神経ネットワークを”ON”にした際の膵β細胞増殖の変化を検討した。

### (2) 膵β細胞増殖を起こす膵迷走神経由来因子の同定

膵迷走神経末端から分泌されることが知られている因子をマウスの単離膵島に作用させた際の膵β細胞増殖を BrdU 染色や FoxM1 標的遺伝子の発現解析などによって検討した。すでにいくつかの因子を作用させた際に膵β細胞増殖が亢進する有望な結果を得ていたことから本研究では、それらの中で最も効率的に膵β細胞増殖を起こす因子の同定を行った。また、膵β細胞増殖を起こすいくつかの因子の組み合わせがある可能性も考えられるため、それについて検討した。さらに膵β細胞増殖を亢進する因子、その組み合わせを同定し、上記ノックアウトマウスの単離膵島で膵β細胞増殖効果を検討することで神経因子による膵β細胞増殖制御における FoxM1 の意義を直接的に検討した。

### (3) 肥満状態での膵β細胞増殖における FoxM1 の意義の解明

この神経ネットワークは肥満の際の代償性膵β細胞増殖に関与していることから、遺伝性あるいは食餌誘導性肥満モデルマウスにおいて膵β細胞内 FoxM1 経路がどのように変化しているのかを解析した。研究代表者は高脂肪食を1週間負荷しただけで肝臓の ERK 経路が活性化し、マウスの膵島で FoxM1 経路が活性化している予備的な結果を得ていたことから、このメカニズムは肥満の初期から膵β細胞増殖を亢進しインスリン分泌を促す環境を整えることで、その後の血糖値の上昇を抑制するきわめて重要な糖代謝恒常性維持機構であることを示唆されていた。そこで肥満モデルマウスにおいて、アデノウイルスによる遺伝子導入によって肝臓 ERK 経路を抑制した場合、あるいは膵迷走神経を切断して神経ネットワークを阻害した場合に膵β細胞内 FoxM1 経路や膵β細胞増殖がどのように変化するのかを検討した。これらにより肥満での迷走神経による代償

性膵β細胞増殖制御における FoxM1 経路の意義の解明を目指した。また膵β細胞特異的 FoxM1 ノックアウトマウスに高脂肪食を長期的に負荷した際に膵β細胞増殖が抑制されるかを検討した。

#### 4 . 研究成果

本研究によって肥満モデルマウスにおいて膵β細胞FoxM1経路が活性化していること、肥満モデルマウスにおいて肝臓—膵β細胞間神経ネットワークを阻害した場合に膵β細胞内FoxM1経路の活性化が阻害され、膵β細胞増殖が抑制されること、高脂肪食を負荷した際の膵β細胞増殖は膵β細胞特異的FoxM1 ノックアウトマウスにおいて著明に抑制されることが明らかになった。さらにアセチルコリンにVIPあるいはPACAPなどの迷走神経由来神経ペプチドを組み合わせて単離膵島に同時に作用させることで膵β細胞増殖が亢進することを見出し、この際に膵β細胞内でFoxM1 経路が活性化していることを発見した。これらの結果から、肥満の進展の際には、肝臓—膵β細胞間神経ネットワークにおいて迷走神経から複数の神経因子が分泌され、それら神経因子の作用によって膵β細胞内FoxM1 経路が活性化して代償性膵β細胞増殖を促進していることを世界で初めて明らかにした ( *Nature Communications* 2017 下記業績5 )

#### 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 7 件)

1. **Imai J**: Regulation of compensatory beta-cell proliferation by inter-organ networks from the liver to pancreatic beta-cells. *Endocrine Journal*; 65:677-684,doi:10.1507/endocrj.EJ18-0241, 2018
2. Honma M, Sawada S, Ueno Y, Murakami K, Yamada T, Gao J, Kodama S, Izumi T, Takahashi K, Tsukita S, Uno K, **Imai J**, Kakazu E, Kondo Y, Mizuno K, Kawagishi N, Shimosegawa T, Katagiri H: Selective insulin resistance with differential expressions of IRS-1 and IRS-2 in human NAFLD livers. *International Journal of Obesity (2005)*; doi: 10.1038/s41366-018-0062-9, 2018
3. Kaneko R, Sawada S, Tokita A, Honkura R, Tamura N, Kodama S, Izumi T, Takahashi K, Uno K, **Imai J**, Yamada T, Miyachi Y, Hasegawa H, Kanai H, Ishigaki Y, Katagiri H: Serum cystatin C level is associated with carotid arterial wall elasticity in subjects with type 2 diabetes mellitus: A potential marker of early-stage atherosclerosis. *Diabetes Research and Clinical Practice*; 139:43-51,doi:10.1016/j.diabres.2018.02.003, 2018
4. Munakata Y, Yamada T, **Imai J**, Takahashi K, Tsukita S, Shirai Y, Kodama S, Asai Y, Sugisawa T, Chiba Y, Kaneko K, Uno K, Sawada S, Hatakeyama H, Kanzaki M, Miyazaki JI, Oka Y, Katagiri H: Olfactory receptors are expressed in pancreatic beta-cells and promote glucose-stimulated insulin secretion. *Scientific Reports*; 8:1499,doi:10.1038/s41598-018-19765-5, 2018
5. Yamamoto J, **Imai J (Corresponding author)**, Izumi T, Takahashi H, Kawana Y, Takahashi K, Kodama S, Kaneko K, Gao J, Uno K, Sawada S, Asano T, Kalinichenko VV, Susaki EA, Kanzaki M, Ueda HR, Ishigaki Y, Yamada T, Katagiri H: Neuronal signals regulate obesity induced beta-cell proliferation by FoxM1 dependent mechanism. *Nature Communications*; 8:1930,doi:10.1038/s41467-017-01869-7, 2017
6. Kawana Y, **Imai J (Corresponding author)**, Sawada S, Yamada T, Katagiri H: Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibitor Improves Complications of Lipodystrophy: A Case

Report. *Annals of Internal Medicine*; 166:450-451,doi:10.7326/L16-0372, 2017

7. Asai Y, Yamada T, Tsukita S, Takahashi K, Maekawa M, Honma M, Ikeda M, Murakami K, Munakata Y, Shirai Y, Kodama S, Sugisawa T, Chiba Y, Kondo Y, Kaneko K, Uno K, Sawada S, **Imai J**, Nakamura Y, Yamaguchi H, Tanaka K, Sasano H, Mano N, Ueno Y, Shimosegawa T, Katagiri H: Activation of the Hypoxia Inducible Factor 1alpha Subunit Pathway in Steatotic Liver Contributes to Formation of Cholesterol Gallstones. *Gastroenterology*; 152:1521-1535, doi: 10.1053/j.gastro.2017.01.001, 2017

〔学会発表〕(計 2 件)

1. **Imai J**: Regulation of Compensatory Beta-cell Proliferation by Vagal Nerve Signals, 2018 Asia Islet Biology&Incretin Symposium 2018, 韓国 ソウル

2. **今井淳太**、山本淳平、井泉知仁、片桐秀樹: Regulation of pancreatic beta-cells by vagal nerve signals, 第 91 回日本内分泌学会 シンポジウム, 2018, 宮崎

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年:  
国内外の別:

○取得状況(計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年:  
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

東北大学大学院医学系研究科 糖尿病代謝内科学分野

<http://www.diabetes.med.tohoku.ac.jp/>

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号(8桁):

### (2)研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。