

令和元年6月10日現在

機関番号：12301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16140

研究課題名(和文) 膵細胞におけるSirt1によるグルカゴン分泌制御機構の解明

研究課題名(英文) Sirt1 regulates pancreatic alpha cell proliferation and glucagon secretion

研究代表者

菊池 司 (Kikuchi, Osamu)

群馬大学・生体調節研究所・研究員

研究者番号：40739009

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：Sirt1は膵細胞においてインスリン分泌と細胞の分化増殖を調節することが知られている。一方、Sirt1の発現は細胞よりも膵細胞で多いが、その生理機能は不明である。そこで本研究では細胞特異的Sirt1ノックアウト(KO)マウスを作製し、その解明を試みた。KOマウスでは細胞量の増加が認められたが、低血糖時の血中グルカゴン濃度はむしろ低下していた。高インスリンランプの結果、KOマウスでは低血糖誘導早期には血中グルカゴン濃度と内因性糖産生が低下し、低血糖誘導後期にはそれが逆転した。以上の解析結果より、Sirt1は細胞の分化増殖を抑制する一方で、グルカゴン分泌を促進することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は生体内でエネルギーセンサー分子として機能するSirt1に着目し、糖尿病で見られるグルカゴン分泌異常との関連を調べた。

グルカゴン分泌細胞である細胞でSirt1を欠損させたマウスでは、低血糖時のグルカゴン分泌の障害が見られ、一方で細胞量は増加した。これは糖尿病で見られるグルカゴン分泌異常と合致した結果であり、エネルギーセンサー分子Sirt1の発現低下がグルカゴン分泌異常の原因の一つであることが示唆された。この研究成果はグルカゴン分泌異常の治療薬開発につながる可能性もあり、社会的意義は大きいと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Sirt1, known as an energy sensor, regulates pancreatic cell proliferation and insulin secretion. However, the roles of Sirt1 in cells are still unclear. Thus, we investigated the roles of Sirt1 in cell proliferation and glucagon secretion. We generated cell specific Sirt1 knockout (SKO) mice. Cell mass in SKO mice was significantly increased compared to the control mice. Although recovery from insulin-induced hypoglycemia was impaired in SKO mice due to decreased plasma glucagon secretion. Hyperinsulinemic-hypoglycemic clamp revealed that SKO mice have lower hepatic glucose production (HGP) and lower plasma glucagon concentration than the control mice at 60 min after insulin injection. However, at 120 min after insulin injection, HGP and plasma glucagon concentration were rather increased in SKO mice compared to the control mice. These results suggest that Sirt1 inhibits cell proliferation, whereas accelerates glucagon secretion in cells.

研究分野：糖尿病

キーワード：グルカゴン Sirt1

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

1. 研究開始当初の背景

糖尿病の発症の要因として膵細胞でのインスリン分泌不全および末梢臓器でのインスリン抵抗性に加えて、膵細胞におけるグルカゴン分泌異常が重要視されつつある。2型糖尿病患者では、インスリンだけでなくグルカゴンの分泌障害も認められることは古くから知られているが、膵細胞研究に比べてβ細胞研究はこれまでほとんど進められてこなかった。しかしながら近年になってグルカゴン受容体欠損マウスはストレプトゾトシンによってβ細胞を破壊しても耐糖能障害が起こらない事が報告され、糖尿病の発症はインスリンではなくグルカゴンに起因するとするグルカゴン中心説も提唱されるに至っている()。

NAD⁺依存性の脱アセチル化酵素 Sirt1 は、β細胞において「UCP2 の発現抑制によってグルコース反応性のインスリン分泌を正に制御」し、「FoxA2 の活性化を介して分化・増殖・新生を正に、FoxO1 の活性化を介して負に調節」するという多面的な役割を演じている事が明らかとなっている。(、 、) 一方、膵臓内で Sirt1 の発現はβ細胞で最も顕著に確認されるが()

β細胞における Sirt1 の機能に関する既報は無い。またβ細胞において Sirt1 による調節を受ける UCP2 と FoxA2、FoxO1 はβ細胞においても分化増殖やグルカゴン分泌に関与することが、申請者や他の研究グループの報告から明らかとなっている。(、 、 、)

2. 研究の目的

上記背景から、「β細胞において Sirt1 は UCP2 の発現抑制を介してグルコース反応性のグルカゴン分泌を調節し、FoxA2 および FoxO1 の活性化を介してβ細胞の分化・増殖・新生とプログルカゴン遺伝子の転写を調節する」という仮説が考えられた。そこで本研究ではβ細胞特異的 Sirt1 遺伝子改変マウスの表現型解析と、培養細胞株を用いた *in vitro* 解析を通して、この仮説を検証した。

3. 研究の方法

(1) *in vivo* 解析

β細胞特異的 Sirt1 ノックアウトマウスの表現型解析をすることでβ細胞における Sirt1 の生理的機能を検討した。遺伝子改変マウスは Glucagon-cre マウス(ジュネーブ大学、Herrela 教授よりの供与)と Sirt1-flox マウス(ハーバード大学、Alt 教授からの供与)の交配によって作製した。表現型解析には体重および血糖値、血中グルカゴン濃度の測定と、糖負荷試験およびインスリン負荷試験、組織免疫染色を用いたβ細胞量の定量を行った。

(2) *in vitro* 解析

細胞株の一つ InR1G 細胞を用いて、Sirt1 阻害薬のグルカゴン分泌への効果を検証した。

4. 研究成果

(1) *in vivo* 解析

体重および血糖値

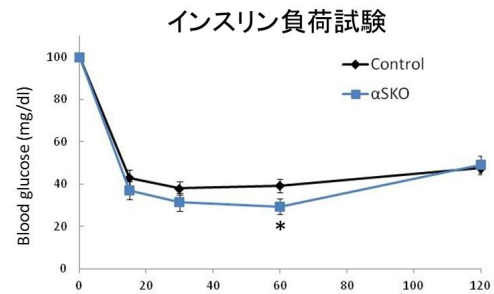
Sirt1 KO マウスとコントロールマウスの間で体重に変化は見られなかった。また、自由摂食時及び空腹時の血糖値にも差は見られなかった。

糖負荷試験

糖負荷試験の結果、Sirt1 KO マウスとコントロールマウスに耐糖能に差は認められなかった。

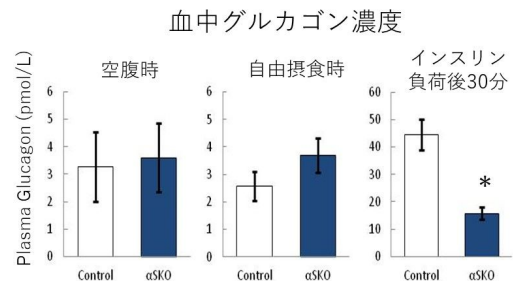
インスリン負荷試験

Sirt1 KO マウスではコントロールのマウスと比べてインスリン負荷後の血糖値の回復が有意に障害された。



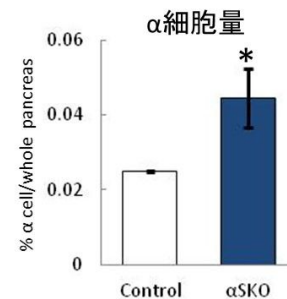
血中グルカゴン濃度

Sirt1 KO マウスでは、インスリン負荷後 30 分の低血糖誘導時にのみ血中グルカゴン濃度の有意な減少が見られた。空腹時および自由摂食時にはコントロールマウスと差は認められなかった (右図)。またこの際の血糖値にも有意な変化認められなかった



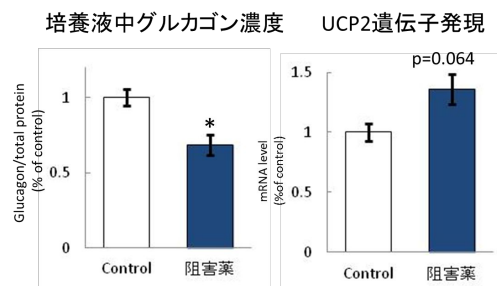
細胞量

Sirt1 KO マウスでは、細胞量の有意な増加が見られた (右図)。またこれを反映してラ氏島中のグルカゴン含量は Sirt1 KO マウスで増加していた。



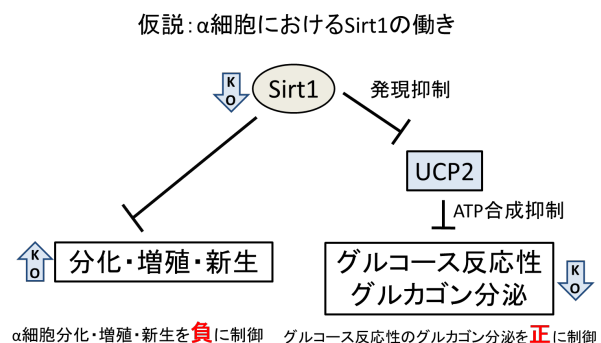
(2) in vitro 解析

細胞株への Sirt1 阻害薬添加では、UCP2 の発現増加を伴う、グルカゴン分泌の抑制が認められた。



(3) 総括

Sirt1 KO マウスの表現型解析の結果から、細胞において Sirt1 は細胞の分化増殖を抑制する一方で、グルカゴン分泌は促進することが示唆された。また培養細胞の実験結果から、グルカゴン分泌の促進は Sirt1 による UCP2 の発現抑制を介したものである可能性が示された。



<引用文献>

Unger RH et al. J Clin Invest. 2012 Jan;122(1):4-12.

Moynihan et al. Cell Metab 2005 Aug;2(2):105-17
Kitamura T et al. Cell Metab 2005 Sep;2(3):153-63
Wang RH et al. Int J Biol Sci. 2013 Sep 21;9(9):934-46
Allister EM et al. Diabetes 2013 May;62(5):1623-33
Lee CS et al. Dev Biol 2005 Feb 15;278(2):484-95
Heddad Masson M et al. Endocrinology. 2014 Oct;155(10):3781-92
Kikuchi O et al. PLoS ONE 2012 ;7(2): e32249

5 . 主な発表論文等

[学会発表](計3件)

1)「膵 細胞における Sirt1 によるグルカゴン分泌制御」, 菊池司, 第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会、2017 年 5 月 20 日

2)「膵 細胞における Sirt1 によるグルカゴン分泌制御」, 菊池司, 第 91 回日本内分泌学会学術総会、2018 年 4 月 26 日

3)「膵 細胞における Sirt1 の機能解析」, 菊池司, 第 61 回日本糖尿病学会年次学術集会、2018 年 5 月 25 日

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。