

令和 3 年 6 月 25 日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08053

研究課題名(和文) 食後高血糖・食後高中性脂肪血症が骨髄幹細胞・血管内皮前駆細胞に与える影響

研究課題名(英文) Aberrant postprandial glucose/triglyceride spikes promote premature aging of hematopoietic stem/progenitor cells

研究代表者

岩崎 真佳 (IWASAKI, Masayoshi)

関西医科大学・医学部・研究医員

研究者番号：30548706

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：血管内皮前駆細胞(endothelial progenitor cells: EPCs)は血管内皮細胞への分化能を有する骨髄由来の前駆細胞で、血管内皮機能の恒常性維持や血管新生に寄与する。末梢血中のEPC数は様々な心血管危険因子の存在により減少し、その減少は将来の心血管イベント発生の予測因子となる事が知られている。2型糖尿病患者において末梢血中のEPCが減少する事は良く知られているが、その機序は明らかでない。今回報告者は臨床研究とマウスを用いた研究を行い、食後高血糖+食後高中性脂肪血症が骨髄中のEPCの転写調節に影響を与え、EPCの老化を急速に促進させることを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では食後高血糖+食後高中性脂肪血症が骨髄中のEPCの転写調節に広範な影響を及ぼし、EPCの老化を急速に促進させることを確認した。また、この食後高血糖+食後高中性脂肪血症による老化促進効果は可逆性である可能性が示唆された。この検討によって動脈硬化性疾患の発症・進展における食後高血糖・食後高中性脂肪血症の新たな病態生理学的意義が明らかになること、そして新たな治療標的の発見につながる事が期待される。

研究成果の概要(英文)：Bone marrow-derived endothelial progenitor cells (EPCs) contribute to endothelial repair and angiogenesis. Reduced number of circulating EPCs is associated with future cardiovascular events. We tested whether dysregulated glucose and/or triglyceride (TG) metabolism has an impact on EPC homeostasis. Our human study revealed that postprandial hyperglycemia is negatively correlated with circulating EPC number and this correlation is further enhanced in the presence of postprandial hypertriglyceridemia (HTG). We therefore examined the effect of glucose/TG spikes on bone marrow lineage-sca-1+c-kit+ (LSK) cells in mice, because primitive EPCs constitute a fraction of bone marrow LSK cells. Repetitive glucose+lipid (GL) spikes, but not glucose (G) or lipid (L) spikes alone, induced premature aging of LSK cells, and this phenomenon was reversible after cessation of GL spikes. G spikes and GL spikes differentially affected transcriptional program of LSK cell metabolism and differentiation.

研究分野：循環器疾患・糖尿病

キーワード：食後高血糖 食後高中性脂肪血症 幹細胞老化

1. 研究開始当初の背景

(1)糖尿病における糖・中性脂肪代謝異常と心血管イベントの関連

2型糖尿病患者にとって心血管イベントは予後、QOL (quality of life) に重大な影響を及ぼす合併症である。国内外の疫学研究により心血管イベントはHbA1cの上昇に伴って増加する事が示されている。しかし、これまでの大規模臨床試験においてHbA1cを指標とした血糖コントロールは明らかな心血管イベント抑制効果を示す事ができておらず、心血管イベント抑制のための血糖値の至適コントロールレベルについては一定の見解は得られていない。

一方で、2型糖尿病患者は中性脂肪代謝異常を合併する事が多く、最近の我が国の疫学研究では高中性脂肪血症は2型糖尿病患者においてHbA1cを上回り、LDLコレステロールと同レベルの心血管危険因子である可能性が示唆されている (J Clin Endocrinol Metab 2011; 96: 3448-3456)。非糖尿病患者においても高中性脂肪血症は心血管危険因子の1つであるが、一般的に高LDL血症ほどの強い影響力は持たないとされる (Nat Clin Pract Endocrinol Metab 2009; 5: 150-159)。糖尿病患者においては、糖代謝異常と中性脂肪代謝異常が合併することにより、これら両者が相乗的に心血管イベントの増加をきたしている可能性が考えられる。

(2)血管内皮前駆細胞と心血管イベントの関連

EPCは骨髄由来の前駆細胞で、血管内皮細胞に分化することにより傷害を受けた血管内皮細胞層の修復、機能維持、血管新生に大きく寄与している。これまでのヒトでの検討により、末梢血中のEPC数は血管内皮機能と強い正の相関を示すこと、加齢や心血管危険因子(高血圧、高LDL血症、喫煙、糖尿病など)によって末梢血中のEPCの数や機能が低下すること、そしてこのEPC数の減少は将来の心血管イベント発症を予測する上で有用なバイオマーカーであることが報告されている (Circ Res 2012;110:624-637, Circ Res 2015;116:289-297)。

(3)糖脂質代謝異常が血管内皮前駆細胞に及ぼす影響

糖尿病患者においてEPC数が低下する原因としては、骨髄の脂肪化など、むしろ周辺環境の変化が主たる原因であるとこれまで報告されている。しかし、糖代謝異常に伴う動脈硬化の形成は糖尿病初期や糖尿病と診断される以前の段階(耐糖能異常)で進行することが良く知られており (Eur Heart J 2013; 34: 3035-3087) 骨髄の脂肪化が顕性化するより以前の段階で、糖脂質代謝異常が、骨髄内のEPC・造血幹細胞に影響を与えている可能性が示唆される。実際に、最近の幹細胞研究により、成人幹細胞における糖・脂肪酸代謝の変化はその増殖・分化に強い影響を及ぼす事が明らかになっている (Nat Cell Biol 2016;18:823-832)。

HbA1cが5.0%~7.9%の患者における私たちの先行臨床研究では食後高血糖+食後高中性脂肪血症がEPC数を減少させる因子であった。

2. 研究の目的

成人幹細胞における糖脂質代謝経路の障害は幹細胞の増殖・分化に重大な影響を及ぼす。これまでに絶食時間を長めにすることで骨髄幹細胞における薬剤誘導性細胞老化を抑制できる可能性が示唆されている (Cell Stem Cell 2014; 14: 810-823)。「カロリー制限」が老化の進行を抑制する可能性が種を越えて示されてきているが、本研究では動物モデル(野生型マウス)を用いて逆に「過剰な糖や脂肪酸」が血中にスパイク状に存在する事が骨髄中のEPC・造血幹細胞の営みにどのような影響を与えるのか、特に骨髄内の造血幹細胞の老化促進に関与するか否かを問う。

この検討から冠動脈疾患の発症・進展における食後高血糖・食後高中性脂肪血症の新たな病態生理学的意義が明らかになるものと期待される。

3. 研究の方法

夜間絶食とした後、2g/kgの糖液、6ml/kgの乳化脂肪液を静脈注射することで食後高血糖、食後高中性脂肪血症のモデル動物を作製する。

実験群は以下の4群とする。

- (1)糖液投与群：食後高血糖群
- (2)乳化脂肪液投与群：食後高中性脂肪血症群
- (3)糖液+乳化脂肪液投与群：食後高血糖+高中性脂肪血症群
- (4)PBS投与群：コントロール群

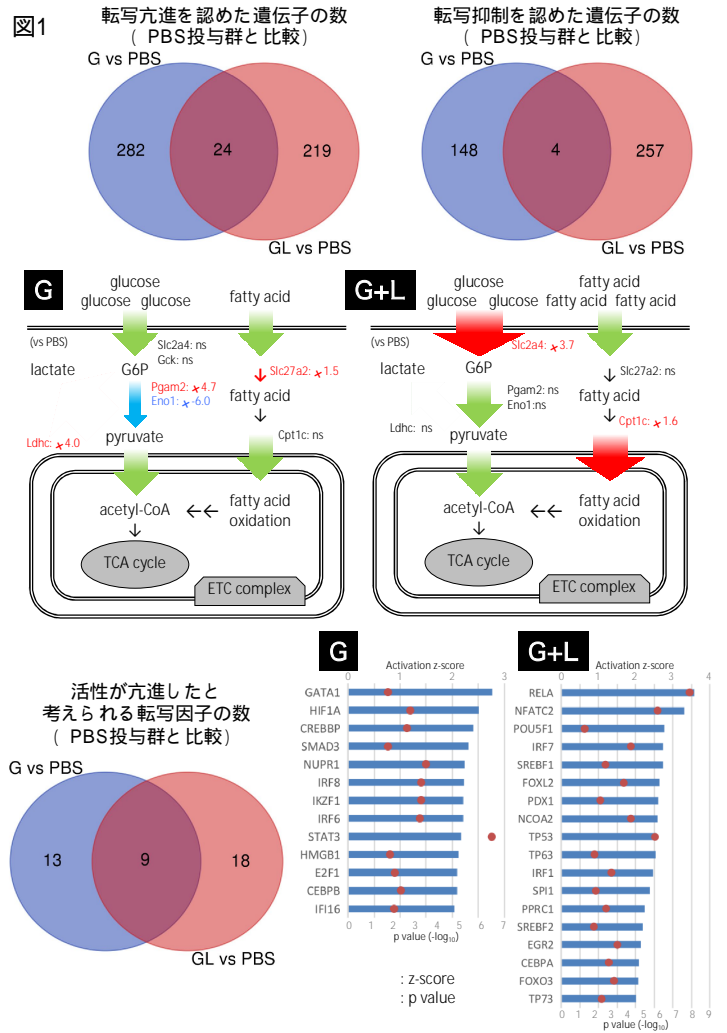
4. 研究成果

高齢C57BL6マウスではHSPC分画の増加とHSPCの細胞周期活性の上昇、またHSPCの分化が骨髄球系へ偏りをみせる(骨髄球系>リンパ球系)ことがよく知られている。

今回私たちは夜間絶食とした12週齢のC57BL6マウスに糖液(G群)、乳化脂肪液(L群)、糖液+乳化脂肪液(G+L群)を静脈注射することを7日間継続し、8日目に骨髄細胞を採取し検討を行ったところ、コントロール(PBS群)と比較しG+L群のみでHSPC内でTp53の発現上昇を認め、HSPC分画の増加し、HSPCの細胞周期活性が上昇し、分化能が低下する事、HSPCの分化が骨

髓球系へ偏りをみせる事を確認した。

機序を検討する目的で PBS 群、G 群、G+L 群のマウスの骨髓細胞からセルソーターを使用して LSK 細胞分画(HSPC 分画)を単離し RNA シークエンス解析を行った。結果、図 1 上段に示すように G スパイクと G+L スパイクは HSPC の転写調節に非常に異なった影響を与えることがわかった。前述したように、HSPC 内の代謝調節が HSPC の運命決定に強い影響を及ぼすことから、解糖系などに関わる遺伝子の発現を比較すると、G スパイクでは代謝中間産物がミトコンドリアへ流入するのを抑制する調節が働く(図 1 中段左)のに対して、G+L スパイクではむしろ逆の調節が働いている(図 1 中段右)に見える。4 つの HSPC 運命決定転写因子(GATA1: 赤血球系、IKZF1:リンパ球系、SPI1: 骨髓球系、CEBPA: 骨髓球系)の活性化に関しては、G+L スパイクは SPI1 と CEBPA を活性化する(図 1 下段)ことで骨髓球系へ偏った分化を誘導することが示唆された。また、パスウェイ解析では、G スパイクは HSPC のミトコンドリア生合成を抑制すること、G+L スパイクはヘテロクロマチンを減少させることがしめされた。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 岩崎真佳
2. 発表標題 糖・中性脂肪の食後代謝が制御する骨髄幹細胞・血管内皮前駆細胞の転写調節、老化と若返り
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩崎真佳
2. 発表標題 The fluctuation of postprandial blood glucose and triglyceride level govern HSC metabolism, transcription, premature aging and rejuvenation
3. 学会等名 第36回国際心臓研究学会日本部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩崎真佳
2. 発表標題 Postprandial blood glucose and triglyceride govern HSC transcription, metabolism, premature aging and rejuvenation
3. 学会等名 第3回日本循環器学会基礎研究フォーラム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Keita Horitani
2. 発表標題 Postprandial blood glucose and triglyceride metabolism govern HSC transcriptional regulation, premature aging and rejuvenation
3. 学会等名 The American Heart Association's Scientific Sessions 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩崎真佳
2. 発表標題 Postprandial glucose and triglyceride metabolism govern premature aging and rejuvenation of bone marrow.
3. 学会等名 第4回日本循環器学会基礎研究フォーラム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩崎真佳
2. 発表標題 Aberrant postprandial glucose/triglyceride spikes promote premature aging of hematopoietic stem/progenitor cells through JMJD3-mediated epigenetic regulation
3. 学会等名 第85回日本循環器学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	塩島 一郎 (SHIOJIMA Ichiro) (90376377)	関西医科大学・医学部・教授 (34417)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------