

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：31603

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2023

課題番号：18K08524

研究課題名(和文) 内因性オキシトシンによる血糖恒常性維持システムの解明と糖尿病治療基盤

研究課題名(英文) Regulation of glucose metabolism by oxytocin via insulin secretion

研究代表者

出崎 克也 (Dezaki, Katsuya)

医療創生大学・薬学部・教授

研究者番号：90337329

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)：オキシトシンは下垂体後葉ホルモンであり、その末梢投与は膵島インスリン分泌を促進することが報告されている。本研究では、オキシトシンの生理的インスリン分泌調節作用を明らかにすることを目的とした。オキシトシンは、刺激濃度グルコース(8.3mM)存在下で細胞 $[Ca^{2+}]_i$ を濃度依存的に増大させ、膵島インスリン分泌を促進した。オキシトシンは細胞に直接作用し、TRPチャネルの活性化と細胞膜の脱分極を促し、主に細胞外からのカルシウムイオン流入によりグルコース誘発インスリン分泌を増強すると考えられる。細胞オキシトシンシグナルは2型糖尿病治療薬の新規ターゲットとなることが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血糖変動幅を小さくし血糖恒常性を高める事は糖尿病学・生理学の理想であり、内因性オキシトシンがこれを担うという申請者の発見は画期的であり、糖代謝機構の解明に貢献する学術的意義がある。オキシトシンの血糖依存的なインスリン分泌促進作用は、既存の糖尿病治療薬には無い全く新しい作用様式であり、新たな糖尿病治療薬の開発基盤を提供する。オキシトシン併用投与により、糖尿病治療薬の使用濃度を低下させることが可能となり、低血糖等の副作用頻度を軽減し糖尿病治療の安全性を高めることが期待される。

研究成果の概要(英文)：The neurohypophysial hormone, oxytocin (Oxt), reportedly stimulates insulin release from pancreatic islets, however, direct action of Oxt on islet insulin-releasing b-cells remains to be determined. In mouse isolated islets, Oxt increased 8.3 mM glucose-induced insulin release without altering basal insulin release at 2.8 mM glucose. Oxt potentiated glucose (8.3 mM)-induced $[Ca^{2+}]_i$ increases in b-cells. In the presence of Oxt receptor antagonist, Oxt failed to potentiate $[Ca^{2+}]_i$ in b-cells, indicating interaction of Oxt with its receptor. The b-cell $[Ca^{2+}]_i$ response to Oxt was attenuated by Gq-protein inhibitor and TRP channel blocker. These results demonstrate that Oxt directly interacts with b-cells, enhancing glucose-induced $[Ca^{2+}]_i$ increase and insulin release. Oxt may glucose-dependently activates Gq-mediated non-selective cation channels to promote Ca^{2+} influx through L-type Ca^{2+} channels, providing a potential molecular target to treat type 2 diabetes.

研究分野：糖尿病学、生理学

キーワード：インスリン分泌 糖代謝 糖尿病

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

糖尿病治療は高血糖の改善を目指す、その際に起こる有害事象である低血糖は、血管や神経へのダメージを誘発し心血管イベントや死亡リスクを高める。糖尿病治療薬であるインスリンやSU薬は低血糖のリスクが非常に高く、インクレチン関連薬やSGLT2阻害薬も低血糖のリスクがある。オキシトシンは、脳視床下部の室傍核と視索上核で産生され、血中に放出されて分娩と射乳を促進する女性特有のホルモンとして知られてきた。オキシトシン神経細胞の一部は脳内に投射しており、申請者らのグループは中枢オキシトシン神経の摂食抑制作用を立証し (Cell Metab 2009)、肥満マウスへのオキシトシン投与により過食・肥満症が改善し、更に耐糖能異常も改善することを報告した (Aging 2011)。さらに申請者は、外来性オキシトシン投与が血糖上昇時にはインスリン分泌を惹起して耐糖能を改善し、血糖低下時にはグルカゴン分泌を惹起して低血糖を防止する作用を見いだした。したがって、外来性オキシトシン投与は抗肥満と血糖正常化の両作用による糖尿病治療効果が期待される。これまでの外来性オキシトシン作用の学術的背景から、オキシトシンによる血糖調節作用が推察されるが、糖代謝におけるオキシトシンの生理的役割については不明な点が多く、病態生理学的意義も未解明である。

2. 研究の目的

本研究は、内因性オキシトシンの新規生理機能としての血糖最適化制御の実証を目的とする。オキシトシンの生理的インスリン分泌調節作用を明らかにすることを目的とし、オキシトシンの膵細胞直接作用およびシグナル伝達を検討した。オキシトシンによる血糖依存的インスリン・グルカゴン分泌を介した糖代謝調節機構を解明し、糖尿病におけるオキシトシンの病態生理学的役割を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 膵島インスリン分泌測定

雄性 C57BL/6J マウスからコラゲナーゼ法により膵ランゲルハンス島 (膵島) を分離し、低グルコース (2.8 mM) または高グルコース (8.3 mM) 条件下での膵島インスリン分泌を ELISA 法にて測定した。

(2) 細胞内 Ca²⁺ 濃度 ([Ca²⁺]_i) 測定

単離した細胞に Ca²⁺感受性蛍光色素の fura-2/AM を負荷し、蛍光倒立顕微鏡下で細胞内 Ca²⁺動態をリアルタイム蛍光画像解析により測定した。[Ca²⁺]_i は、340nm および 380nm の励起による 510nm の蛍光強度比 (F₃₄₀/F₃₈₀) で表示した。

(3) 細胞チャネル電流測定

ATP 感受性 K⁺チャネル阻害剤の Tolbutamide (100 μM) 存在下で、ナスタチン穿孔パッチクランプ法またはホールセルパッチクランプ法により細胞のイオンチャネル電流または細胞膜電位を測定した。

4. 研究成果

(1) オキシトシンは、刺激濃度グルコース (8.3mM) 存在下で細胞 [Ca²⁺]_i を濃度依存的に増大させ、膵島インスリン分泌を促進した。非刺激濃度 (2.8mM) グルコース下では、オキシトシンは細胞 [Ca²⁺]_i やインスリン分泌に影響しなかった。オキシトシンによる細胞 [Ca²⁺]_i 上昇と膵島インスリン分泌促進作用は、オキシトシン受容体拮抗薬や Gq タンパク質阻害薬、細胞外 Ca²⁺除去や非選択的カチオンチャネル阻害薬によって抑制された。

- (2) オキシトシンは、細胞の非選択的カチオンチャンネル電流を増強し、膜電位を脱分極させた。これらオキシトシンによるチャンネル電流の増強と脱分極作用は、非選択的カチオンチャンネル阻害薬によって抑制された。
- (3) 細胞に対するオキシトシンの効果を検討した結果、オキシトシンはグルコース濃度非依存的に膵島グルカゴン分泌を促進し、細胞 $[Ca^{2+}]_i$ を増大させた。細胞外 Ca^{2+} 除去や非選択的カチオンチャンネル阻害薬は、オキシトシンによる細胞 $[Ca^{2+}]_i$ 上昇作用には影響しなかった。
- (4) オキシトシンの細胞内シグナルの解明のために、オキシトシンと同様にグルコース濃度依存的にインスリン分泌促進作用を示す新規糖尿病治療薬のImegliminの作用とオキシトシンの作用を比較検討した。マウス膵島細胞に対するImegliminの効果を検討した結果、Imegliminは濃度依存的に膵島グルコース誘発インスリン分泌を促進した。Imegliminは、cADPR阻害薬の存在下ではインスリン分泌を促進しなかった。また、Imegliminは膵細胞の非選択的カチオンチャンネル（TRPM2チャンネル）電流を活性化し、TRPM2-KOマウスの膵島ではImegliminのインスリン分泌促進作用が消失した。

以上より、オキシトシンは細胞に直接作用し、Gqタンパクを介した非選択的カチオンチャンネルの活性化により細胞膜の脱分極を促し、グルコース誘発インスリン分泌を増強すると考えられる。細胞ではオキシトシンは細胞内 Ca^{2+} ストアからの Ca^{2+} 遊離を引き起こしてグルカゴン分泌を増強するのに対して、細胞では主に細胞外からの Ca^{2+} 流入によりグルコース誘発インスリン分泌を増強すると考えられる。さらに、Imegliminは膵細胞のcADPRを介してTRPM2チャンネルを活性化し、インスリン分泌を促進することを明らかにした。本研究により新たなインスリン分泌シグナルが見出され、オキシトシンシグナルへの関与が示唆される。オキシトシン受容体シグナルは、新たな糖尿病治療法の開発基盤となることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Dezaki Katsuya, Yada Toshihiko	4. 巻 148
2. 論文標題 Status of ghrelin as an islet hormone and paracrine/autocrine regulator of insulin secretion	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Peptides	6. 最初と最後の頁 170681
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.peptides.2021.170681.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Funazaki Shunsuke, Yoshida Masashi, Yamada Hodaka, Kakei Masafumi, Kawakami Masanobu, Nagashima Shuichi, Hara Kazuo, Dezaki Katsuya	4. 巻 13
2. 論文標題 A novel mechanism of imeglimin mediated insulin secretion via the cADPR TRP channel pathway	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 34-41
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13669	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ito Kiyonori, Ookawara Susumu, Imai Sojiro, Kakuda Hideo, Bandai Yusaku, Fueki Mariko, Yasuda Masatoshi, Kamimura Tatsuya, Kiryu Satoshi, Wada Noriko, Hamashima Yuri, Shindo Mitsutoshi, Kobayashi Tadanao, Sanayama Hidenori, Kaku Yoshio, Tanno Keisuke, Ohnishi Yasushi, Iino Noriaki, Dezaki Katsuya 他	4. 巻 44
2. 論文標題 Muscle mass evaluation using psoas muscle mass index by computed tomography imaging in hemodialysis patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Nutrition ESPEN	6. 最初と最後の頁 410-414
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clnesp.2021.04.029.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Takei Shoko, Nagashima Shuichi, Takei Akihito, Yamamuro Daisuke, Wakabayashi Tetsuji, Murakami Akiko, Isoda Masayo, Yamazaki Hisataka, Ebihara Chihiro, Takahashi Manabu, Ebihara Ken, Dezaki Katsuya, Takayanagi Yuki, Onaka Tatsushi, Fujiwara Ken, Yashiro Takashi, Ishibashi Shun	4. 巻 69
2. 論文標題 -Cell-specific deletion of HMG-CoA (3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A) reductase causes overt diabetes due to reduction of -cell mass and impaired insulin secretion.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diabetes	6. 最初と最後の頁 2352-2363
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2337/db19-0996	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Goswami Chayon, Dezaki Katsuya, Wang Lei, Inui Akio, Seino Yutaka, Yada Toshihiko	4. 巻 7
2. 論文標題 Ninjin'yoeito targets distinct Ca ²⁺ channels to activate ghrelin-responsive vs. unresponsive NPY neurons in the arcuate nucleus.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Nutrition	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnut.2020.00104	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Watanabe Sachiko, Usui-Kawanishi Fumitake, Komada Takanori, Karasawa Tadayoshi, Kamata Ryo, Yamada Naoya, Kimura Hiroaki, Dezaki Katsuya, Ohmori Tsukasa, Takahashi Masafumi	4. 巻 531
2. 論文標題 ASC regulates platelet activation and contributes to thrombus formation independent of NLRP3 inflammasome.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 125-132
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.07.063	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Goswami Chayon, Dezaki Katsuya, Wang Lei, Inui Akio, Seino Yutaka, Yada Toshihiko	4. 巻 75
2. 論文標題 Ninjin-yoeito activates ghrelin-responsive and unresponsive NPY neurons in the arcuate nucleus and counteracts cisplatin-induced anorexia	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuropeptides	6. 最初と最後の頁 58-64
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.npep.2019.03.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 稲垣 暢也、出崎 克也、原田 直樹、原田 範雄	4. 巻 8
2. 論文標題 ホルモンによる膵島機能制御	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Islet Equality	6. 最初と最後の頁 5-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Goswami Chayon, Dezaki Katsuya, Wang Lei, Inui Akio, Seino Yutaka, Yada Toshihiko	4. 巻 75
2. 論文標題 Ninjin-yoeito activates ghrelin-responsive and unresponsive NPY neurons in the arcuate nucleus and counteracts cisplatin-induced anorexia	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuropeptides	6. 最初と最後の頁 58-64
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.npep.2019.03.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 出崎 克也
2. 発表標題 消化管ホルモンによるTRPM2を介したインスリン分泌調節
3. 学会等名 第43回東北薬学セミナー (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 出崎 克也, 吉田 昌史, 伊藤 聖学, 加計 正文, 矢田 俊彦
2. 発表標題 オキシトシンは膵 細胞の背景電流を増大させグルコース誘発インスリン分泌を促進する
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山田 穂高, 船崎 俊介, 吉田 昌史, 伊藤 聖学, 出崎 克也, 川上 正舒, 石川 三衛, 加計 正文, 原 一雄
2. 発表標題 膵 細胞GPR40シグナルはTRPチャネル活性化を介してKATP非依存性にインスリン分泌を増強する
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 出崎克也
2. 発表標題 オキシトシン経鼻投与は内因性オキシトシン分泌を促進し耐糖能を向上させる
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Dezaki Katsuya
2. 発表標題 Gq-mediated activation of non-selective cation channels in insulin releasing b-cells
3. 学会等名 FAOPS2019 (国際学会)
4. 発表年 2019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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------