

令和 4 年 6 月 27 日現在

機関番号：12301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K16191

研究課題名(和文) ヒストンメチル化酵素MLLの膵細胞におけるエピジェネティックな機能解析

研究課題名(英文) Epigenetic functional analysis of histone methyltransferase MLL in pancreatic beta cells

研究代表者

吉野 聡 (YOSHINO, SATOSHI)

群馬大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90786089

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：MLLノックアウトマウスのはも接合体は胎生致死であるため、ヘテロマウスを用いて解析を行った。ヘテロマウスは、耐糖能異常を認めるがインスリン抵抗性は示さず、糖負荷時におけるインスリン分泌低下を認めた。isletを単離し行ったGSISではヘテロマウスでグルコース刺激に対してインスリンの分泌低下を認めた。組織学的検索では、細胞数の減少を認めなかった。培養細胞系において、MLLのノックダウンしGSISを行ったところ、MLLのノックダウンでグルコース刺激に対するインスリン分泌の低下を認めた。Islet及び培養細胞に共通してSLC2a1およびSLC2a2遺伝子mRNA発現の低下を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で、マウスの膵インスリン分泌細胞においてMLLが欠失することでインスリン分泌能が低下し、MLLがグルコース刺激に対するインスリン分泌に関与する機能を有することを見出した。糖尿病患者ではインスリン分泌が低下していることが知られている。また、MLLはヒストンメチル化酵素や転写制御因子として機能し、代謝に関与する遺伝子領域における機能も報告されている。今後さらなる研究において、MLLの膵インスリン分泌細胞におけるインスリン分泌に関する機能を解明することで、糖尿病治療に対する新たな治療ターゲットとなり創薬につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We analyzed the involvement of MLL in glucose metabolism in the pancreas using MLL knockout mice. MLL heterozygous mice showed impaired glucose tolerance in IPGTT. However, ITT showed no insulin resistance and decreased insulin secretion during glucose loading. In GSIS tests, Islets isolated from heterozygous mice pancreas have been observed to decrease insulin secretion in the response to glucose stimulation. Histological search showed no decrease in  $\beta$ -cell number, and immunohistological search showed no difference in insulin, glucagon, and TUNEL staining. And also, MLL knockdown was performed in a cultured cell line. The result of insulin secretion was same as mice. Both MLL knockout mice and MLL knockdown cell line, the expression levels of SLC2a1 and SLC2a2 were decreased. In conclusion, MLL attenuates insulin secretion by reducing glucose sensitivity in mouse pancreas.

研究分野：代謝および内分泌学関連

キーワード：MLL インスリン分泌

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 糖尿病患者数は、日本および世界的で急激に増加してきており、その病態解明および治療開発は様々なアプローチおよび方法で行われている。糖尿病とは、インスリン分泌不足と作用不足による糖代謝異常の病態である。その中でも膵臓のβ細胞からのインスリン分泌低下によりインスリン治療が必要となることが多く、インスリン治療は、患者のQOL、インスリン治療の方法論、医療費などの面より多くの課題があり、その解決は医療面のみならず社会的にも重要であり必要とされている。そのため、膵臓のβ細胞の機能解析およびインスリン分泌に関する解明は、糖尿病治療を画期的に変えることが期待できる。

(2) 近年インスリン分泌や細胞の脱分化など、インスリン分泌や細胞機能において新たな知見が得られている (Cell, 2012)。MLL (myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia) は MLL 関連白血病において、染色体 11 番長腕 q23 領域 (11q23) の転座し、転座による再構成の結果発現する MLL 融合遺伝子が白血病発症に重要な役割を果たしている (Blood, 1998)。また、多発内分泌腫瘍型 (MEN1) においても MLL が menin 結合蛋白として腫瘍発生に重要な役割を果たすことが報告されている。さらに、MLL はヒストン H3 リシン 4 メチル化 (H3K4-HMT) 活性を有し、正常 MLL タンパク epigenetic な転写制御因子であることが証明され、白血病においてもメチル化活性が関与していることが報告されている (Cell, 2017)。代謝に關与する遺伝子領域においても MLL のヒストンメチル化酵素としての機能が報告されている (Nature, 2010)。そこで、膵β細胞におけるヒストンのメチル化を介したエピジェネティックな機能の解明が、今後の糖尿病治療を大きく発展させると考えられた。

### 2. 研究の目的

本研究は、膵細胞におけるヒストンのメチル化を介したエピジェネティックな機能の解明し糖尿病治療に応用することが最終目的であるが、MLL の膵細胞における機能の解明を当初の目的とした。

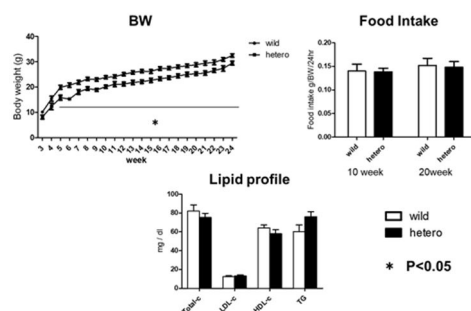
### 3. 研究の方法

(1) MLL ノックアウトマウスのホモ接合体は胎生致死であるため、ヘテロマウスとワイルドタイプマウスを用いて糖脂質代謝に關連する解析を行った。

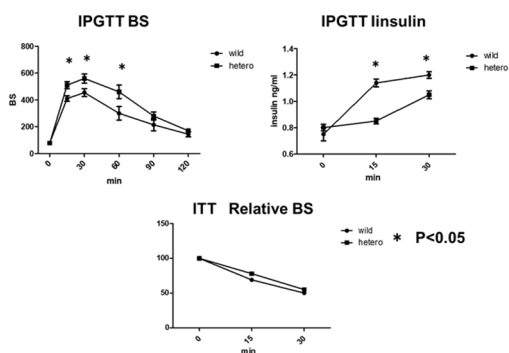
(2) マウスで得られた結果を膵細胞における変化であることを確認するために、膵細胞系の培養細胞を用いて、インスリン分泌機能、変化する遺伝子群を検索した。

### 4. 研究成果

(1) 標準餌負荷において、MLL ヘテロマウスは、ワイルドタイプと比較し優位な体重およびやせを認めた。しかし体重あたりの摂食量に差を認めなかった。また脂質プロファイルには変化を認めなかった。

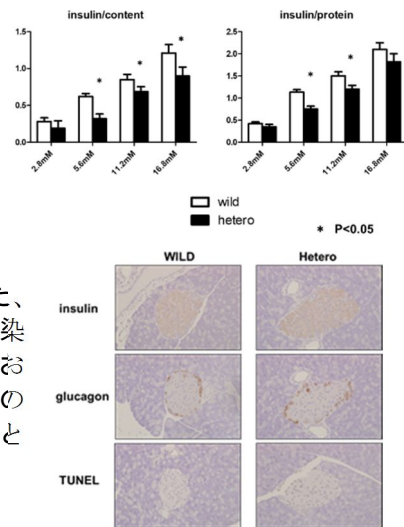


(2) IPGTT の結果からは、MLL ヘテロマウスは、ワイルドタイプマウスと比較して耐糖能異常を認めた。しかし、ITT では、ヘテロマウスはインスリン抵抗性は示さず、IPGTT の糖負荷時におけるインスリンの初期分泌低下を認めた。以上の結果より、MLL は膵細胞の機能およびインスリン分泌に關与していること見出した。

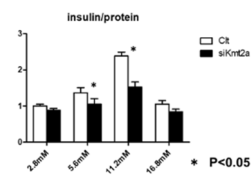


(3) これまでの結果からマウスの膵臓より islet を単離しブドウ糖負荷試験を行いインスリン分泌能を確認した。その結果、マウスでの IPGTT の結果から予想された通り、インスリン分泌細胞でのブドウ糖負荷に対するインスリン分泌能の低下を認めた。

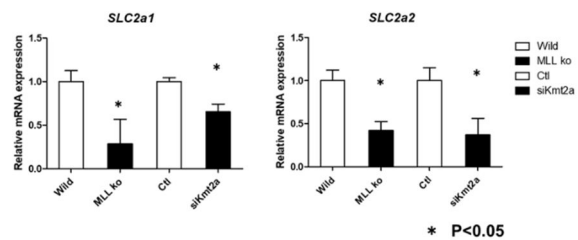
しかし、マウスの膵臓の免疫染色では、インスリンの染色でヘテロマウスとワイルドマウスで差はなく、インスリン産生能やインスリン貯蔵が少ないためではないことが明らかになった。グルカゴン染色でも差を認めなかった。また、顕微鏡所見でも、islet の形態変化や数に差はなく、TUNEL 染色でも差を認めなかった。以上の所見より、MLL はマウスにおいて、アポトーシスの誘導などによる膵細胞の数や形態の変化ではなく、インスリン分泌能に関連して機能していると考えられた。



(4) このような表現型が膵細胞におけるものが確認するために、培養細胞系である HC9 細胞にて MLL のノックダウンを行い、インスリン分泌試験を行った。MLL のノックダウンを RNA レベルで確認した。培養細胞系においても MLL のノックダウンでグルコース刺激に対するインスリン分泌の低下を認めた。



(5) マウスから単離した islet および MLL のノックダウンした HC9 細胞より mRNA を抽出し、遺伝子の網羅的解析の結果から、マウス islet および培養細胞に共通して、ブドウ糖感受性に関連する *SLC2a1*, *SLC2a2* 遺伝子の発現低下を認めた。



本研究により、MLL が膵臓においてインスリン分泌に関与することが示唆された。MLL のインスリン分泌に関する研究発表は、現時点で他にはなく、この成果は世界的にインパクトがあると考えられる。今後、詳細なメカニズムの解明のための研究継続が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Satoshi Yoshino, Emi Ishida Kazuhiko Horiguchi, Shunichi Matsumoto, Yasuyo Nakajima, Eijiro Yamada, Shuichi Okada and Masanobu Yamada
2. 発表標題 Analysis of novel histone methylase MLL function for glucose metabolism in mouse pancreas
3. 学会等名 ENDO2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉野 聡
2. 発表標題 ヒストンメチル化酵素MLLの膵臓における糖代謝への関与に対する解析
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 吉野 聡
2. 発表標題 ヒストンメチル化酵素MLLの膵臓における糖代謝への関与に対する解析
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

〔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
---------	---------