

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17516

研究課題名(和文) 膵島と腺房細胞の相互作用におけるGLP-1を介した膵 細胞増殖制御機構の解析

研究課題名(英文) Investigation of GLP-1 mediated pancreatic beta cell proliferation by interactions between islets and acinar cells

研究代表者

京原 麻由 (KYOHARA, Mayu)

横浜市立大学・附属病院・助教

研究者番号：20828545

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)：GLP-1は膵 細胞増殖の促進作用が報告される。我々は、GLP-1受容体作動薬のリラグルチド刺激膵島のプロテオミクス解析を行い、外分泌腺の消化酵素Amy1や、膵腺房細胞に発現し膵 細胞へ作用する可能性が報告される分泌因子Reg1の発現上昇を見出した。単離膵島と腺房細胞の共培養系を確立し、GLP-1は接着分子の発現誘導により膵島と周囲の腺房細胞の接着を促進し、腺房細胞由来のReg1を介して膵 細胞増殖を促進する機序が想定された。GLP-1による膵 細胞増殖における、膵島と腺房細胞との相互作用を介した新規経路の関与が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、GLP-1による膵 細胞増殖における、膵島と腺房細胞との相互作用を介した新規経路の関与が示唆された。本研究の成果はGLP-1等のインクレチンを介した糖尿病治療における未解明の作用機序解明につながるとともに、膵 細胞増殖研究への貢献と、腺房細胞を標的とした糖尿病の新規治療法の開発へとつながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：GLP-1 enhances cell proliferation in pancreatic β -cells. We conducted a quantitative proteomic analysis of mouse islets treated with GLP-1 receptor agonist liraglutide. Pancreatic exocrine enzymes, such as α -amylase 1 (Amy1), were identified as up-regulated proteins by liraglutide treatment. We also identified that liraglutide augmented the expression of Lithostatin-1 (Reg-1) in islets. Reg-1 predominantly expresses in pancreatic acinar cells, and regulates β -cell proliferation. By co-culture of isolated islets with acinar cells, the expression level of Reg-1, Amy1, and cell adhesion molecules, p-cadherin and connexin-26, were increased by liraglutide treatment in islets. It was suggested that GLP-1 promoted adhesion between islets and surrounding acinar cells, and interaction between islets and acinar cells potentially contributed to the GLP-1-mediated β -cell proliferation through mitotic action of Reg-1 from acinar cells.

研究分野：糖尿病

キーワード：GLP-1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

GLP-1 は膵島においてグルコース応答性インスリン分泌を増強し、膵細胞の増殖および生存を促進させることが報告されている。しかしながら膵細胞増殖や生存に関する作用機序は、未だに不明な点も多い。

GLP-1 受容体作動薬は、血糖依存性のインスリン分泌促進作用と、糖尿病合併症予防効果が示され、現在最も注目される糖尿病薬の一つである。従前より GLP-1 の膵細胞保護作用は広く研究され、ヒトでも示されてきた。

2. 研究の目的

膵細胞機能制御における GLP-1 受容体作動薬作用の新規経路を同定する。

3. 研究の方法

8-10 週齢の C57BL/6 マウスの膵管内にコラゲナーゼを注入し単離した膵島に、GLP-1 受容体作動薬であるリラグルチド 100nM を添加し (Lira 群)、Lira 非添加のコントロール群とともに 5.6mmol/L グルコース下に一晚培養した後、定量的プロテオーム解析を行った。

4. 研究成果

膵島の lysate より 1821 個のタンパク質が同定され、Lira 群においてコントロール群と比較し、有意に発現上昇していた 19 のタンパク質と、低下していた 1 つのタンパク質を同定した (Max fold change >2, $P < 0.05$)。興味深いことに、Lira により発現上昇するタンパク質として、 α -amylase 1 (Amy-1; 3.3-fold, $P = 0.01$)、Anoionic trypsin 2 (Prss-2; 3.4-fold, $P < 0.01$) などの膵腺房細胞に発現する外分泌酵素関連タンパクが多数同定されたことから、GLP-1 により膵島と周囲の腺房細胞の接着が促進され、膵島周囲に付着する腺房細胞が増加する可能性を想定した。また、Lira 添加により、膵腺房細胞に発現し膵細胞増殖を促進することが知られる Lithostatine-1 (Reg-1; 2.3-fold, $P = 0.02$) が発現上昇することに着目した。

Reg1 (Regenerating islet-derived 1) は、膵細胞再生増殖因子として、膵切除後の再生膵島から単離された遺伝子である。Reg1 は主に膵腺房細胞に発現する分泌因子であり、Reg1 欠損マウスは、体重、血糖、膵島の形態に差はないものの、視床下部性の肥満に対する代償性の膵細胞増殖が低下する (文献)。Reg1 による膵細胞増殖は、ATF-2 と Cyclin D1 の活性化を介した経路であることが報告されている (文献)。GLP-1 による膵細胞増殖への Reg1 の関与は、これまで報告されていない。

我々は、単離膵島と腺房細胞の共培養系を確立し、膵島単独や膵腺房細胞単独の培養では、Lira 添加による Reg-1 の発現変化は認めないものの、膵島と膵腺房細胞を共培養することで、膵島における Reg-1 の発現が Lira 添加により有意に上昇し (10.1-fold, $P = 0.02$)、また、Amy-1 などの膵外分泌酵素や、P-cadherin や Connexin-26 など特定の細胞接着因子の発現も、Lira 添加により有意に発現上昇することを見出した。これらのことから、Lira は接着分子の発現誘導により膵島と腺房細胞の接着を促進し、膵島において腺房細胞由来の Reg1 の発現が上昇したと考えられた。

次に Reg1 欠損マウスを用いた解析を行い、免疫染色にて、Reg1 は α -amylase と共染し膵腺房細胞に発現しており、膵島での発現を認めず、Reg1 欠損マウスにて、腺房細胞での染色消失を確認した。Reg1 欠損マウスでは Lira 皮下注による膵細胞増殖促進を認めず、Lira 皮下注後の野生型マウスと比較して有意に膵細胞増殖が低下した。これより、Lira は接着分子の発現誘導により膵島と周囲の腺房細胞の接着を促進することで、腺房細胞に発現する Reg1 を介して膵細胞増殖を促進する可能性が考えられた。

次に、単離膵島と腺房細胞の共培養系を用いて、野生型マウスの単離膵島を、野生型マウスの腺房細胞もしくは Reg1 欠損マウスの腺房細胞と共培養したところ、野生型マウス単離膵島を野生型マウス腺房細胞と共培養すると Lira による膵細胞増殖は促進された一方、Reg1 欠損マウス腺房細胞との共培養では Lira による膵細胞増殖は低下した。また、Reg1 欠損マウス単離膵島を用いて、野生型マウス腺房細胞と共培養すると Lira による膵細胞増殖は促進された一方、Reg1 欠損マウス腺房細胞との共培養では Lira による膵細胞増殖は低下した。これより、GLP-1 による膵細胞増殖に、腺房細胞由来の Reg1 の作用を介することが示された。

以上より、Lira は接着分子の発現誘導により膵島と周囲の腺房細胞の接着を促進することで、腺房細胞に発現する Reg1 を介して膵 細胞増殖を促進する可能性が考えられた。

膵 細胞間の細胞接着が膵 細胞機能に重要であることはすでに知られているが、膵島・腺房細胞間の接着と膵 細胞増殖に関する報告はない。また、GLP-1 による膵 細胞増殖に関するこれまでの研究は、膵 細胞への直接作用に関する報告が主であり、膵島と腺房細胞の相互作用に関する報告はない。

本研究により、GLP-1 の膵 細胞の増殖・生存促進作用において、膵島と周囲の腺房細胞との相互作用による Reg-1 を介した新たな経路が存在する可能性が示唆された。

< 引用文献 >

Michiaki Unno, Koji Nata, Naoya Noguchi, Yoichi Narushima, Takako Akiyama, Takayuki Ikeda, Kei Nakagawa, Shin Takasawa, Hiroshi Okamoto, Production and characterization of Reg knockout mice: reduced proliferation of pancreatic beta-cells in Reg knockout mice. *Diabetes*. 2002 Dec;51 Suppl 3:S478-83.

Shin Takasawa, Takayuki Ikeda, Takako Akiyama, Koji Nata, Kei Nakagawa, Nausheen J Shervani, Naoya Noguchi, Shoko Murakami-Kawaguchi, Akiyo Yamauchi, Iwao Takahashi, Tomoko Tomioka-Kumagai, Hiroshi Okamoto, Cyclin D1 activation through ATF-2 in Reg-induced pancreatic beta-cell regeneration. *FEBS Lett*. 2006 Jan 23;580(2):585-91.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 京原麻由、白川純、寺内康夫
2. 発表標題 膵島と腺房細胞の相互作用によるGLP-1を介した膵 細胞増殖制御機構の解析
3. 学会等名 第94回日本内分泌学会学術総会
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
---------------------------	-----------------------	----

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