

令和 6 年 5 月 14 日現在

機関番号：35303

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16360

研究課題名（和文）膵島血流に着目したGLP-1の新規作用機序の解明：In vivo画像による検討

研究課題名（英文）Elucidation of a new mechanism of action of GLP-1 focusing on pancreatic islet blood flow - Investigation by in vivo imaging -

研究代表者

木村 友彦（Kimura, Tomohiko）

川崎医科大学・医学部・講師

研究者番号：50454830

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：糖尿病モデルへのLiraglutide（Lira）投与3分後の膵島周囲の血管ボリュームは20%程度有意に拡張した。また血流速度も増加した。慢性投与ではコントロール群に比し、Lira群では血糖値が改善した。In vivo imagingから膵島血管のvolume等はLira群で高値であった。Pimonidazole染色、CD31染色もこの所見を支持した。またLira群は、膵島におけるNOの産生が有意に上昇していた。膵島遺伝子発現はLira群では虚血マーカーであるHif1 発現が低値であり、その下流因子も低下していたことからLira慢性投与によるNO増加は膵島を虚血から保護したと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病治療薬であるGLP-1受容体作動薬は、単に血糖降下薬としてではなく、動脈硬化性疾患や腎障害を合併する2型糖尿病患者への使用が学会アルゴリズムからも推奨されている。これらのメカニズムの1つにGLP-1受容体作動薬による血管への直接効果に関与していることが我々を含め、報告されてきている。今回の検討では、糖尿病状態における膵ラ氏島の血流をGLP-1が有意に増加させることを確認しており、これはGLP-1によるインスリン分泌機序の1つであると示唆される。GLP-1は膵 細胞を虚血から保護することにより機能障害を抑制しており、新規治療法の確立に寄与する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Three minutes after administration of Liraglutide (Lira) to the diabetic model, the vascular volume around the pancreatic islets was significantly expanded by about 20%. Blood flow velocity also increased. Chronic administration improved blood glucose levels in the Lira group compared to the control group. In vivo imaging showed that the volume of pancreatic islet blood vessels was higher in the Lira group. Pimonidazole staining and CD31 staining also supported this finding. Furthermore, in the Lira group, NO production in pancreatic islets was significantly increased. Regarding pancreatic islet gene expression, the expression of Hif1 , an ischemic marker, was low in the Lira group, and its downstream factors were also decreased, suggesting that the increase in NO caused by chronic Lira administration protected pancreatic islets from ischemia.

研究分野：糖尿病

キーワード：膵島血流 GLP-1 虚血 糖尿病

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

2 型糖尿病病態進展の主たる要因は 細胞機能障害である。糖尿病モデル動物では、膵島内の微小循環障害がみられるが 1,2)、我々は血管内皮インスリンシグナル機能不全がこの原因の 1 つであると報告した 3)。GLP-1 は血管内皮 GLP-1 受容体を介して cAMP を上昇させ、NO 産生から血管内皮に保護的に働くと考えられている 4,5)。

2. 研究の目的

GLP-1 による膵島微小循環系への影響を In vivo imaging 法により生理的条件下で検討する。さらに糖尿病モデル動物において、GLP-1 受容体作動薬長期投与による膵島血流・細胞機能への影響を詳細に検討し、細胞保護効果の新たなメカニズムを解明する。

3. 研究の方法

実験 1: (単回投与)

使用動物

B6.Cg-Tg (Ins1-EGFP) 1Hara/J マウス→Insulin 1 プロモータ (MIP-GFP) の下、GFP を発現するトランスジェニックホモ接合性であり、紫外線またはレーザー光照射により緑色蛍光を発するため、レーザー顕微鏡下において生存のもと膵島の同定が可能である。

急性投与:

非糖尿病モデル: 8 週齢の B6.Cg-Tg (Ins1-EGFP) 1Hara/J マウスを使用

糖尿病モデル: B6.Cg-Tg (Ins1-EGFP) 1Hara/J マウス (6 週齢でストレプトゾトシンを投与し高血糖確認後 2 週間後に使用)

* ストレプトゾトシン: 75mg/kg 隔日投与し、随時血糖 300mg/dl が 2 回連続で確認された個体を 2 型糖尿病モデルマウスとして用いる。

使用薬剤: liraglutide (GLP-1 受容体作動薬: 30µg/kg)

介入方法: 単回静脈内投与

群別: 各群ともに以下の 3 群に群別

liraglutide 群

vehicle 群

・測定パラメーター

随時血糖値、血漿インスリン値、(薬剤投与前後)二光子レーザー顕微鏡を用いた In vivo imaging による各種薬剤投与前後【投与前、投与 3 分後】の islet 血流、islet 周囲血管径評価

実験 2: (慢性投与)

動物は実験 1 と同様の群わけであるが、薬剤介入は血糖上昇確認後、liraglutide (GLP-1 受容体作動薬) (0.4mg/kg/日: 皮下注射) または PBS を、sacrifice まで 4 週間継続投与する。

・測定パラメーター

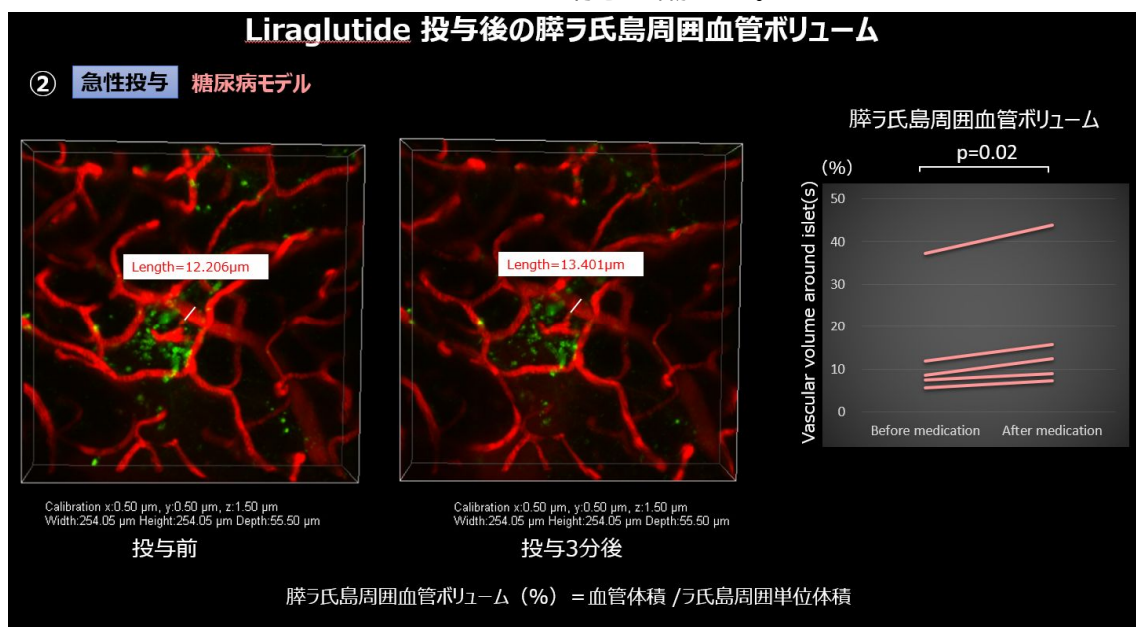
(介入前後) 体重、随時血糖値、血漿インスリン値、血漿グルカゴン値

(介入後) 二光子レーザー顕微鏡を用いた In vivo imaging による islet 血流、islet 周囲血管径評価 (In vivo imaging 前の薬剤投与は行わない)

liraglutide 群、empagliflozin 群、vehicle 群における β 細胞虚血、低酸素の評価を行い (pimonidazole 染色、CD31 染色) β 細胞機能・量への影響を検討する (Glucose stimulated insulin secretion、Ki67 染色、TUNEL 染色) diaminofluorescein-FM 染色

4. 研究成果

正常血糖マウスへの Liraglutide (Lira) 急性投与では膵島血流の明らかな変化は見られなかった。一方で、大変興味深いことに 糖尿病モデルへの Lira 急性投与で投与 3 分後の膵島周囲の血管径が 10% 程度、また血管ボリュームが 20% 程度有意に拡張した。それに伴い、血流速度も 450 マイクロ m/sec から 520 マイクロ m/sec に有意に増加した。



慢性投与においてコントロール群に比し、Lira 群ではインスリン値は上昇し、随時血糖値は著明に低下した。GSIS から、16.7mM Glucose による反応は Lira 群で Control (Con) 群よりも有意に高値であった。膵島のインスリンコンテンツは Lira 群で有意に高値だった。In vivo imaging から膵島血管の volume、血流速度は Lira 群で高値であった。In vivo imaging で得られた所見を古典的な染色方法で確認した。即ち、膵島の Pimonidazole 染色は Control 群に比べ Lira 群で低検出であり Lira により虚血から保護されていることが示唆された。CD31 染色から Lira 群は Con 群に比し陽性エリアが有意に高く ($p=0.029$)、血管内皮細胞が保たれていると示唆された。diaminofluorescein-FM 染色から、Lira 群は Con 群に比し、膵島における NO の産生が有意に上昇していた。膵島 mRNA 発現は Lira 群で Ins1、Ins2、MafA が有意に高値であった。一方で、Hif1 発現は Lira 群で低値であり、その下流因子の Vegf、Pdk1、Gp1、Eno1、Pfk、Hk1、Adm、Ldha、Pgm はいずれも低下していたことから、Lira 慢性投与による NO 増加は膵島を虚血から保護したと考えられた。Lira 急性投与による膵島周囲血流の増加は、GLP-1 によるインスリン分泌機序の 1 つである可能性がある。

糖尿病モデルマウスへの Liraglutide (GLP-1) 慢性投与は、膵細胞を虚血から保護することにより、細胞機能障害を抑制していると考えられる。

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 木村友彦
2. 発表標題 膵島血流に着目したGLP-1の新規作用機序の解明 In vivo imagingによる検討
3. 学会等名 第67回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2024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
---------	---------