

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K16400

研究課題名（和文）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

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） 3,600,000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受容体作動薬を添加した膵島の定量プロテオミクス解析を行い、膵外分泌酵素や、膵腺房細胞に発現し膵 細胞増殖因子として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 細胞増殖作用において、膵島と腺房細胞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 the β -cell proliferation of mouse islets. To identify a novel pathway of GLP-1-mediated β -cell proliferation, we conducted a quantitative proteomic analysis of mouse islets treated with GLP-1 receptor agonist (GLP-1RA). Pancreatic exocrine enzymes, such as Pancreatic alpha-amylase, were identified as up-regulated proteins by GLP-1RA treatment. We also identified that GLP-1RA augmented the expression of Lithostatin-1 (Reg-1) in islets. By co-culture of islets with acinar cells, the expression level of Reg-1 was significantly increased by GLP-1RA treatment in islets, and the expression levels of pancreatic alpha-amylase, and cell adhesion molecules were also significantly increased by GLP-1RA 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 (共通)

1. 研究開始当初の背景

GLP-1 は、膵島において、インスリン合成とインスリン分泌、ER ストレスの減弱、アポトーシスの抑制といった作用に加え、マウスにおいて直接的に膵β細胞増殖の促進作用が示されている。そのメカニズムはこれまで広く研究され、NFAT や PDX-1、Cyclin D1 など、様々な転写因子を cAMP 依存性、非依存性に活性化する膵β細胞内シグナル伝達系を中心に報告されてきたが、その機序は未だ不明な点も多い。

2. 研究の目的

膵β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 (リラグルチド 100nM) を添加した群 (GLP-1RA 群)、GLP-1RA 非添加のコントロール群に分け、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

膵島の定量的プロテオーム解析では、膵島の lysate より 1226 個のタンパク質が同定され (peptide score > 30, unique peptide > 2 で抽出)、GLP-1RA 非添加のコントロール群と比較し、GLP-1RA 添加群において有意 (Fold change > 2, P < 0.05) に発現量が上昇した 13 個のタンパク質のうち、9 個が膵腺房細胞に発現する外分泌酵素関連タンパク (ex. Amy2, Cel1, Prss2) であり、同じく膵腺房細胞に発現し膵β細胞増殖因子として報告される分泌因子の Lithostathine-1 (Reg1) の上昇も認めた (2.77 倍)。

我々は、単離膵島と膵腺房細胞の共培養系を樹立し、GLP-1RA による膵島への腺房細胞の付着促進と Reg1 および P-Cad や Cx26 等の細胞接着因子の発現上昇を確認した。

Reg1 (Regenerating islet-derived 1) は、膵β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β細胞増殖が低下する (文献①)。Reg1 による膵β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②)。また、STZ 投与 1 型糖尿病モデルマウスやヒト劇症 1 型糖尿病患者において、腺房細胞の Reg1 発現が上昇することが報告されている (文献③)。一方、GLP-1 による膵β細胞増殖への Reg1 の関与は、これまで報告されていない。

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 GLP-1RA 皮下注による膵β細胞増殖促進を認めず、GLP-1RA 皮下注後の野生型マウスと比較して有意に膵β細胞増殖が低下した。

野生型マウス (WT) 単離膵島と WT 腺房細胞との共培養では、GLP-1RA により膵β細胞増殖は促進されたが (1.51 倍, P = 0.04)、WT 単離膵島と Reg1 欠損マウス (Reg1KO) 腺房細胞との共培養では GLP-1RA による膵β細胞増殖は促進を認めなかった。一方、Reg1KO 単離膵島と WT 腺房細胞の共培養では、GLP-1RA により膵β細胞増殖は促進された (1.60 倍, P = 0.03)。これより、Lira により誘導された腺房細胞由来の Reg1 が膵β細胞増殖を促進していることが示された。

マウス単離膵島にリコンビナント Reg1 を添加すると膵β細胞増殖は促進され (2.05 倍, P = 0.01)、GLP-1RA 添加による膵β細胞増殖の増大は認めなかった。膵腺房細胞には Glp1r 発現を認めず、腺房細胞の単独培養では GLP-1RA により Reg1 発現は変化しなかった。一方、GLP-1RA 添加膵島の培養上清で刺激した腺房細胞では Reg1 の発現が上昇した。

これより、GLP-1 が膵島の GLP-1R に作用すると、膵島と腺房細胞の接着促進および膵島由来の液性因子を介した腺房細胞での Reg1 発現を誘導し、腺房細胞由来の Reg1 が膵β細胞増殖を促進させるという、膵島腺房細胞連関による Reg1 を介した新規膵β細胞増殖機構の存在が示唆された。

本研究により、GLP-1 の膵β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された。

<引用文献>

- ① 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.
- ② 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.
- ③ Yarong Lu, André Ponton, Hiroshi Okamoto, Shin Takasawa, Pedro L Herrera, Jun-Li Liu, Activation of the Reg family genes by pancreatic-specific IGF-I gene deficiency and after streptozotocin-induced diabetes in mouse pancreas. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2006 Jul;291(1):E50-8.

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、寺内康夫、白川純 |
| 2. 発表標題 GLP-1受容体作動薬による膵 細胞増殖作用の新機軸 |
| 3. 学会等名 第36回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会 |
| 4. 発表年 2023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 |
|---------|---------|
|---------|---------|