

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 10 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591294

研究課題名(和文) 肝臓 膵 細胞間神経ネットワークを利用した膵 細胞増量治療の開発

研究課題名(英文) Development of inter-organ network-mediated beta-cell mass increasing strategies

研究代表者

今井 淳太 (IMAI, Junta)

東北大学・大学病院・講師

研究者番号：80431500

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：膵島に分布する迷走神経が分泌することが知られている神経ペプチドについて、マウスやラットの単離膵島を用いてそれらのペプチドを作用させた際の膵 細胞増殖効果を検討し、膵迷走神経由来因子を作用させることにより膵 細胞増殖が亢進することを見出した。

一方、肝臓のERK経路を活性化したマウスの単離膵島を用いてマイクロアレイ解析を行い、変動している遺伝子を網羅的に検討し、本機関機構における膵 細胞増殖において重要な働きを示す転写因子を同定した。上記の迷走神経由来因子を作用させた単離膵島でもこの転写因子の活性亢進を示唆する結果がえられた。

研究成果の概要(英文)：We tested the effects of previously reported pancreatic vagal nerve-derived peptides on proliferation of pancreatic islet cells using isolated pancreatic islets from rats and mice. We found vagal nerve derived factors to induce proliferation of pancreatic islet cells.

We also examined gene expressions of pancreatic islets from hepatic ERK-activated mice by microarray analysis, and identified the transcription factor which plays an important role in inducing proliferation of pancreatic beta-cells. In addition, we found that the activity of the transcription factor is up-regulated in isolated pancreatic islets from rats and mice stimulated by aforementioned vagal nerve-derived peptides.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科臨床医学・代謝学

キーワード：糖尿病 膵 細胞 インスリン 臓器間ネットワーク 自律神経

## 1. 研究開始当初の背景

近年の日本では、生活習慣の変化、食生活の欧米化などによる肥満者の増加に伴い、インスリン抵抗性を基盤とする 2 型糖尿病患者が著明に増加している。インスリン抵抗性の際には、膵 β 細胞量が増加しインスリン分泌を亢進することで、糖尿病の発症は予防される。この仕組みは、「体に備わった抗糖尿病機構」と考えられるが、日本人は欧米人と比較して、この機構の働きが弱いことが指摘されており、これは日本において、欧米ほど肥満度が高くないにもかかわらず糖尿病患者が増加している要因と考えられる。一方、1 型糖尿病は膵 β 細胞量の絶対的な不足による高血糖を呈するが、その根治には膵 β 細胞量を増やすことが必要であり、その実現には至っていない。これらのことから、本来体に備わっている膵 β 細胞量を増加させる機構を解明することは糖尿病の病態解明において極めて重要な課題であり、さらにこの機構を利用することで膵 β 細胞減少に起因する糖尿病の新たな治療につながる可能性が考えられる。しかし、何がきっかけで膵 β 細胞量が増加し始めるのか、については不明な点が多い。そこで研究代表者は、この抗糖尿病機構を解明することにより、新しい膵 β 細胞量制御メカニズムを発見すること、またそれを応用することで、膵 β 細胞量増加による糖尿病治療開発を行うことを想起した。

近年、全身の糖代謝における臓器間相互作用の重要性が明らかになりつつある。これらの臓器間相互作用は液性因子、あるいは神経経路を介して起こることが報告されている。研究代表者は、脂肪組織や肝臓からの神経シグナルが、全身でのエネルギー代謝調節に重要な役割を果たしていることを見出した研究に参画し、

個体の代謝恒常性維持における神経シグナルの果たす役割を認識した。そこで、膵 β 細胞量の調節にも、神経シグナルによる臓器間連関機構が関与している可能性を考え、研究を進めた。

## 2. 研究の目的

肥満の際、肝臓で発現が増加、あるいは活性化している様々なタンパクを、アデノウイルスを用いて肝に発現させた。そのうち、肝選択的に extracellular -signal regulated kinase (ERK) 経路を活性化させることにより、極めて選択的に膵 β 細胞が増殖を開始することを見出した。さらに、この肝から膵への臓器間シグナルは、肝臓 - 内臓神経求心路 - 中枢神経 - 迷走神経遠心路 - 膵 β 細胞という神経ネットワークにより伝えられていることを発見した。またこの臓器間連関は肥満によるインスリン抵抗性状態での膵 β 細胞量の増加に関わることも示した。さらにインスリン欠乏性糖尿病モデルマウスにおいて、この臓器間連関経路を活性化することによって膵 β 細胞が再生し、糖尿病が治療できることも明らかになった。

本研究では、このシステムの詳細な機構を解析し、個体としての糖代謝調節機構の解明と、これまでにない視点からの糖尿病の根治治療の開発につなげることを目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1) 膵 β 細胞に作用し増殖を惹起する因子の同定

膵島に分布する迷走神経の末端からは、アセチルコリンのほかいくつかのニューロペプチドなどの生理活性物質が分泌されることが知られている。そこで、単離膵島や培養膵 β 細胞を用い、これらの因子の直接増殖効果を検討した。

### (2) 迷走神経の直接刺激による効果の

## 検討

迷走神経に電気刺激を加えることにより、持続的に膵迷走神経を活性化した際の膵β細胞増殖効果を検討した。

### 4. 研究成果

(1)膵β細胞に作用し増殖を惹起する因子の同定

膵島に分布する迷走神経末端から分泌されることが知られている神経ペプチドについて、単離膵島を用いてそれらに作用させた際の膵β細胞増殖効果を検討し、膵迷走神経由来因子を作用させることにより膵β細胞増殖が亢進することを見出した。また、神経由来因子を作用させた膵島を用いてマイクロアレイ解析を行い、パスウェイ解析やgene ontology解析を進めた結果、これらの因子の刺激により、膵島細胞において、増殖につながる細胞周期関連蛋白の発現増加を見出した。

また肝臓のERK経路を活性化したマウスの単離膵島を用いてマイクロアレイ解析を行い、変動している遺伝子を網羅的に検討した、その結果、本連関機構における膵β細胞増殖において重要な働きを示す転写因子を同定した。この転写因子は迷走神経由来因子を作用させた単離膵島においても、転写活性が亢進していることを示唆する所見が得られたところから、本連関経路による膵β細胞増殖においてカギとなる迷走神経由来因子が同定できつつあると考えている。現在この転写因子の膵β細胞特異的ノックアウトマウスなどの作成が完了しつつあり、これを用いてin vivoでの膵β細胞増殖におけるこの転写因子と迷走神経由来因子の意義について検討を進める予定である。

(2) 迷走神経の直接刺激による効果の検討

自由行動下のラットの頸部迷走神経に

刺激電極を留置して、持続的に迷走神経を電氣的に刺激する実験系を開発した。1か月間の持続的頸部迷走神経電気刺激を行ったラットでは、膵インスリン含量が有意に増加している所見が得られた。

現在、電流の強さ、周波数、1回の刺激時間、刺激を休む時間、一日のうちで刺激を行う時間帯、刺激を行う期間など多数の項目について、より効率的に膵インスリン含量の増加が認められる電気刺激条件の検討を進めている。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 11件)

1. Kondo K, Ishigaki Y, Gao J, Yamada T, Imai J, Sawada S, Muto A, Oka Y, Igarashi K, Katagiri H: Bach1 deficiency protects pancreatic beta-cells from oxidative stress injury. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 305:E641-648, 2013

doi:10.1152/ajpendo.00120.2013. 査読有

2. Takagi M, Ishigaki Y, Uno K, Sawada S, Imai J, Kaneko K, Hasegawa Y, Yamada T, Tokita A, Iseki K, Kanno S, Nishio Y, Katagiri H, Mori E: Cognitive dysfunction associated with anti-glutamic acid decarboxylase autoimmunity: a

case-control study. *BMC Neurol* 13:76, 2013 doi: 10.1186/1471-2377-13-76. 査読有

3. Takahashi K, Yamada T, Tsukita S, Kaneko K, Shirai Y, Munakata Y, Ishigaki Y, Imai J, Uno K, Hasegawa Y, Sawada S, Oka Y, Katagiri H: Chronic mild stress alters circadian expressions of molecular clock genes in the liver. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 304:E301-309, 2013

doi: 10.1152/ajpendo.00388.2012. 査読有

4. Tsukita S, Yamada T, Uno K, Takahashi

K, Kaneko K, Ishigaki Y, Imai J, Hasegawa Y, Sawada S, Ishihara H, Oka Y, Katagiri H: Hepatic glucokinase modulates obesity predisposition by regulating BAT thermogenesis via neural signals. *Cell Metab* 16:825-832, 2012 doi: 10.1016/j.cmet.2012.11.006. 査読有

5. Munakata Y, Yamada T, Takahashi K, Tsukita S, Sawada S, Imai J, Ishigaki Y, Oka Y, Katagiri H: A case of slowly progressive type 1 diabetes with insulin independence maintained for 10 years with alpha-glucosidase inhibitor monotherapy. *Intern Med* 51:3391-3394, 2012 査読有

6. Imai J, Katagiri H: [Regulation of pancreatic beta-cells by inter-organ networks]. *Nihon Rinsho* 70 Suppl 3:109-112, 2012 査読無

7. Saito T, Hasegawa Y, Ishigaki Y, Yamada T, Gao J, Imai J, Uno K, Kaneko K, Ogihara T, Shimosawa T, Asano T, Fujita T, Oka Y, Katagiri H: Importance of endothelial NF-kappaB signaling in vascular remodeling and aortic aneurysm formation. *Cardiovasc Res*, 2012 doi: 10.1093/cvr/cvs298. 査読有

8. Hasegawa Y, Saito T, Ogihara T, Ishigaki Y, Yamada T, Imai J, Uno K, Gao J, Kaneko K, Shimosawa T, Asano T, Fujita T, Oka Y, Katagiri H: Blockade of the nuclear factor-kappaB pathway in the endothelium prevents insulin resistance and prolongs life spans. *Circulation* 125:1122-1133, 2012 doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111. 査読有

9. Uno K, Yamada T, Ishigaki Y, Imai J, Hasegawa Y, Gao J, Kaneko K, Matsusue K, Yamazaki T, Oka Y, Katagiri H: Hepatic peroxisome proliferator-activated

receptor-gamma-fat-specific protein 27 pathway contributes to obesity-related hypertension via afferent vagal signals. *Eur Heart J* 33:1279-1289, 2012 doi: 10.1093/eurheartj/ehr265. 査読有

10. Gao J, Ishigaki Y, Yamada T, Kondo K, Yamaguchi S, Imai J, Uno K, Hasegawa Y, Sawada S, Ishihara H, Oyadomari S, Mori M, Oka Y, Katagiri H: Involvement of endoplasmic stress protein C/EBP homologous protein in arteriosclerosis acceleration with augmented biological stress responses. *Circulation* 124:830-839, 2011 doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA. 査読有

11. Suzuki T, Imai J (Co-first author), Yamada T, Ishigaki Y, Kaneko K, Uno K, Hasegawa Y, Ishihara H, Oka Y, Katagiri H: Interleukin-6 enhances glucose-stimulated insulin secretion from pancreatic beta-cells: potential involvement of the PLC-IP3-dependent pathway. *Diabetes* 60:537-547, 2011 doi: 10.2337/db10-0796. 査読有

〔学会発表〕(計 6 件)

1. 今井 淳太: 第 56 回日本糖尿病学会 総会 シンポジウム講演 “神経シグナルを介した膵 β 細胞制御機構” 熊本 2013 年 5 月 17 日
2. Imai J: Beta Cell Workshop 2013 シンポジウム講演 “Regulation of pancreatic beta-cells by inter-organ networks” 京都 2013 年 4 月 24 日
3. Imai J: 第 4 回アジア糖尿病学会・第 9 回国際糖尿病連合西太平洋総会 シンポジウム講演 “Regulation of pancreatic beta-cells by Inter-organ Networks” 京都 2012 年 11 月 27 日
4. 今井淳太: 第 85 回日本内分泌学会 シンポジウム講演 “臓器間ネットワーク

クによる膵 β 細胞制御機構” 名古屋

2012 年 4 月 19 日

5. Imai J : International Beta-cell work shop  
シンポジウム講演 “Regulation of  
insulin secretion by Inter-organ Networks”  
デンマーク ヘルシンガー 2011 年 10 月  
25 日
6. Imai J : Strategic Japanese-Danish  
Cooperative Program on Molecular  
Diabetology シンポジウム講演  
“Regulation of pancreatic beta-cells by  
neuronal signal” デンマーク コペンハー  
ゲン 2011 年 10 月 21 日
7. Imai J : 第 54 回日本糖尿病学会 シン  
ポジウム講演 “Regulation of Insulin  
Secretion by Inter-Organ  
Communications” 札幌 2011 年 5 月 20  
日

〔産業財産権〕

○取得状況（計 1 件）

名称：膵 β 細胞増殖促進剤、血中インスリン  
濃度上昇剤、血糖値低下剤・糖尿病治療・予  
防薬

発明者：片桐 秀樹、岡 芳知、今井 淳太

権利者：同上

種類：特許

番号：5354866

取得年月日：2013 年 9 月 6 日

国内外の別：国内

6 . 研究組織

(1)研究代表者

今井 淳太 (IMAI, Junta)

東北大学・大学病院・講師

研究者番号：80431500