

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 24 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24700826

研究課題名(和文) アミノ酸が膵細胞量に及ぼす影響の解明

研究課題名(英文) Analysis of interaction between amino acids and pancreatic beta cell mass via epigenetic modulation.

研究代表者

浅原 俊一郎 (Asahara, Shun-ichiro)

神戸大学・医学(系)研究科(研究院)・研究員

研究者番号：00570342

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：代表者は、日本人2型糖尿病患者の膵細胞不全の原因の一つとして、食の欧米化に伴う接種栄養素の変化が、膵細胞におけるエピジェネティクス制御に影響を与え膵細胞量を減少させているのではないかと、という仮説を立てた。数ある栄養素の中から、アミノ酸に注目し、検討を開始した。高脂肪食負荷マウスの膵島内におけるアミノ酸濃度をメタボローム解析により検討したところ、通常食負荷マウスと比べて、セリン、ヒスチジン、イソロイシンを含む多くのアミノ酸濃度が低下していた。それらのアミノ酸を欠乏したメディアウムを用いてINS-1細胞を培養したところ、mTORC1活性低下と生存率の低下が認められた。

研究成果の概要(英文)：In addition to genetic factors, a recent shift towards the western diet may increase the number of type 2 diabetes patients in Japan. Dietary fat intake is apparently increasing for the Japanese population. Furthermore, we focused on the importance of amino acids intake. Therefore we examined the relationship between pancreatic beta cell failure and amino acids.

We analyzed the amino acids concentration in pancreatic islets of mice fed high fat diet. The results revealed that the amino acids concentration in pancreatic islets of high fat diet feeding mice was lower than normal chow diet feeding mice. We found that Serine, Isoleucine and Histidine were largely lower in pancreatic islets of high fat fed mice, so we cultured INS-1 cells with serine, isoleucine and histidine free medium. That resulted in the suppression of mTORC1 activity in INS-1 cells and the reduction of INS-1 cells viability.

研究分野：複合領域

科研費の分科・細目：食生活学

キーワード：エピジェネティクス 2型糖尿病

1. 研究開始当初の背景

日本人における2型糖尿病患者の総数は年々増加傾向を示しており、重大な社会問題となっている。また、日本人は欧米人と比較して有意に肥満度が低いにも関わらず、国民全体に占める糖尿病患者の比率が欧米人と同等以上であると言われている。これは日本人2型糖尿病患者の特徴として、膵β細胞分泌不全をきたしやすいからだと考えられているが、なぜ日本人の膵β細胞が脆弱であるかについては明らかとなっていない。

代表者はこれまで一貫して、膵β細胞量の調節機構についての研究を行ってきた。糖尿病状態における膵β細胞量が、インスリンシグナルや小胞体ストレスによって制御されていることを明らかとしてきている (*J. Clin. Invest.* 120, 115, 2010.; *Nat Genet.* 38: 589, 2006.; *Mol Cell Biol.* 28: 2971, 2008.)。さらに代表者は、インスリンシグナルの低下や小胞体ストレスの亢進といった変化を制御する分子メカニズムとして、「エピジェネティクス制御」に注目している。エピジェネティクスはDNAメチル化やヒストン修飾によって制御される遺伝子発現のことを示す概念であるが、近年は癌や発生・再生、創薬の分野まで幅広く活用されている概念といえる。糖尿病の分野においても、胎生期の子宮内低栄養がエピジェネティクス制御を介して成長後の糖代謝を悪化させることがいくつか報告されており、代表者も、独自に構築した飢餓ストレスマウスにおいて出生時および成体後の膵β細胞量が減少することを明らかとしている (*Biomed Res.* 30: 325-330, 2009.)。しかしながら、胎生期の栄養状態がどのような機序を介して膵β細胞のエピジェネティクス制御に影響を与えているか、また出生後の食生活が膵β細胞におけるエピジェネティクス制御に関与しているかどうかに関してなど依然不明な点は多い。

2. 研究の目的

代表者は、日本人2型糖尿病患者の膵β細胞不全の原因の1つとして、食の欧米化に伴う摂取栄養素の変化が、膵β細胞におけるエピジェネティクス制御に影響を与え膵β細胞量を減少させているのではないかと、という仮説を構築した。実際にこれまでの報告において、イソフラボンやセリンの過剰摂取が臓器特異的にDNAメチル化を促進させたという報告や、酪酸やポリフェノールの摂取が癌細胞でのヒストンアセチル化を促進させることなどが報告されており、各種栄養素がエピジェネティクスに影響を与えていることは間違いないと思われる。さらにこれらの栄養素の暴露は短期作用だけでなく、エピジェネティック・メモリーとして組織・細胞内に記憶されれば、長期に作用することが予想される。しかしながら、これらの栄養素が「膵β細胞」においてエピジェネティクス制御に変化を与えるか、またその結果として膵β細胞量にどのように影響を及ぼしているかは全く不明なままである。代表者は、数ある栄養素の中からアミノ酸によるエピジェネティクス制御に関する検討を行おうと考えている。以前から一部のアミノ酸が膵β細胞からのインスリン分泌を促すことが知られており、また最近の報告では血中のアミノ酸濃度が高い患者はインスリン抵抗性が高いことが示されるなど、アミノ酸と糖代謝の関係は非常に密接であるにも関わらず、その分子メカニズムに関しては十分に解明されていない。アミノ酸が膵β細胞量に及ぼす影響と、その際のエピジェネティクス制御の変化を解明することができれば、食生活によって日本人の膵β細胞の脆弱性を改善し、2型糖尿病の発症および進展を防ぐことが可能となることが期待される。

3. 研究の方法

マウス膵島および血漿におけるアミノ酸濃度をメタボローム解析によって検討を行った。

その研究から得られたデータをもとに、アミノ酸欠乏メEDIUMにて INS-1 細胞を培養し、また野生型マウスにおいて各種アミノ酸投与実験を行った。

4. 研究成果

まず代表者らは、臍島における各アミノ酸濃度を、食餌内容別にどのように変化するか検討を行った。その結果、高脂肪食負荷マウスの血漿では、多くのアミノ酸濃度が上昇していることが明らかとなったが、興味深いことに臍島においては、逆にほとんどのアミノ酸濃度が低下していることがわかった(図 1, 図 2)。

図 1. 通常食(白)および高脂肪食(黒)負荷野生型マウスの血漿におけるアミノ酸濃度

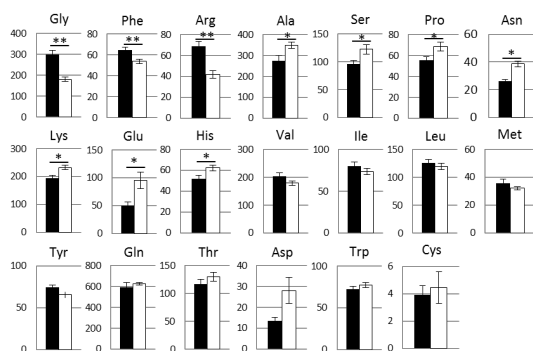
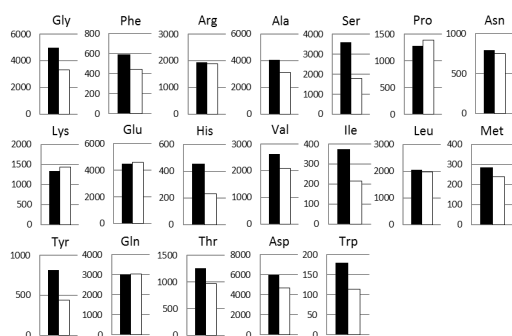


図 2. 通常食(白)および高脂肪食(黒)負荷野生型マウスの臍島におけるアミノ酸濃度



この結果において、アミノ酸の中でも、セリン、イソロイシン、ヒスチジン、トリプトファンなどが、特に臍島において大きな変化がある因子と考えられたため、これらのアミノ酸を欠乏させたメEDIUMで INS-1 細胞の培

養実験を行った。その結果、INS-1 細胞は mTORC1 活性の著明な低下を認め、4~5 日後には viability 低下し、大部分が死滅した。一方アミノ酸欠乏センサーである GCN2 を siRNA で Knockdown した INS-1 細胞では、コントロール群と比して有意に mTORC1 活性が亢進していたが、negative feedback と思われるインスリンシグナル低下によって、コントロール群よりも早く viability の低下が認められた。

さらに in vivo での検討をすすめるべく、野生型マウスに各種アミノ酸投与を行ってみたが、糖代謝や体重、臍細胞量に大きな変化は認められなかった。おそらく投与量や投与時期などの条件設定に問題があったものと思われる、今後の検討課題である。

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 3 件)

Bartolomé A, Kimura-Koyanagi M, Asahara S, Guillén C, Inoue H, Teruyama K, Shimizu S, Kanno A, García-Aguilar A, Koike M, Uchiyama Y, Benito M, Noda T, Kido Y. Pancreatic β cell failure mediated by mTORC1 hyperactivity and autophagic impairment. **Diabetes** in press, 2014. 査読有

Yoshida Y, Fuchita M, Kimura-Koyanagi M, Kanno A, Matsuda T, Asahara S, Hashimoto N, Isagawa T, Ogawa W, Aburatani H, Noda T, Seino S, Kasuga M, Kido Y. Contribution of insulin signaling to the regulation of pancreatic beta-cell mass during the catch-up growth period in a low birth weight mouse model. **Diabetology International**. 5:43-52, 2014. 査読有

Asahara S, Shibutani Y, Teruyama K,

Inoue H, Kawada Y, Etoh H, Matsuda T, Kimura-Koyanagi M, Hashimoto N, Sakahara M, Fujimoto W, Takahashi H, Ueda S, Hosooka T, Satoh T, Inoue H, Matsumoto M, Aiba A, Kasuga M, Kido Y. Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1 (RAC1) regulates glucose-stimulated insulin secretion via modulation of F-actin. *Diabetologia* 56:1088-1097, 2013. 査読有

〔学会発表〕(計 4 件)

神野歩、吉富理紗、増田勝久、浅原俊一郎、松田友和、木村真希、渋谷由紀、春日雅人、清野進、木戸良明、2型糖尿病感受性遺伝子 GCN2 は膵細胞量の調節に関与する、第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会、2013.05.16、熊本

神野歩、吉富理紗、増田勝久、浅原俊一郎、松田友和、木村真希、渋谷由紀、春日雅人、清野進、木戸良明、2型糖尿病感受性遺伝子 GCN2 は膵細胞量の調節に関与する、第 28 回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会、2013.02.14、宮崎

吉富理紗、神野歩、浅原俊一郎、松田友和、木村真希、渋谷由紀、春日雅人、清野進、木戸良明、2型糖尿病発症における eIF2 キナーゼ GCN2 の機能解析、第 35 回日本分子生物学会年会、2012.12.12、福岡

神野歩、吉富理紗、浅原俊一郎、松田友和、木村真希、渋谷由紀、春日雅人、清野進、木戸良明、2型糖尿病発症における eIF2 キナーゼ GCN2 の機能解析、第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会、2012.05.19、横浜

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.research.kobe-u.ac.jp/fhs-diabetes/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

浅原 俊一郎 (Asahara, Shun-ichiro)
神戸大学・大学院医学研究科・研究員
研究者番号：00570342