

令和元年6月2日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H06631

研究課題名（和文）長寿遺伝子SIRT1による腸管を介した糖代謝制御機構の解明

研究課題名（英文）The elucidation of the mechanism by which aging related gene SIRT1 regulates glucose metabolism via intestine.

研究代表者

五十嵐 正樹（Igarashi, Masaki）

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90508095

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,100,000円

研究成果の概要（和文）：腸管は、代謝の制御に重要な役割を果たす臓器ですが、その加齢による変化とその全身へ及ぼす影響はよく知られていません。我々は、先行論文で、加齢に伴い、腸管内分泌細胞数が増加することを見出していますが、本研究では、腸管上皮の長寿遺伝子SIRT1の発現が、腸管内分泌細胞の中でも特に、血糖調節に関わる腸管ホルモンであるGLP-1分泌細胞数を調節することを発見し、その制御機構について解析を行いました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

GLP-1作動薬やDPP4阻害剤は2型糖尿病の治療薬として使用されていますが、これらの薬剤はインスリン分泌を増加させるものの、食事と関連したGLP-1濃度の生理的な変化を模倣するわけではありません。その意味で、腸のSIRT1活性のコントロールにより、L細胞数を増加させることは、耐糖能を改善する効果的な方法となりうると考えられます。

研究成果の概要（英文）：The gut is an organ which takes important roles in whole body metabolism. However, it is unclear how the deterioration of gut homeostasis affects the decline of general body function during aging. We found the number of enteroendocrine cells decrease according to aging in our previous study. In this study, we established the aging related gene SIRT1 regulates the number of gut hormone GLP-1 secreting cells and analysed the underlying mechanism.

研究分野：老化

キーワード：SIRT1 GLP-1

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

長寿遺伝子 SIRT1 は、NAD<sup>+</sup>を基質として、標的タンパクのリジン残基脱アセチル化を促進することで、健康、長寿に関わる様々な生命現象に関与している。カロリー制限は、寿命延長効果、健康増進効果をもち、老化や老化関連疾患への有効な介入法となりうるということが知られているが、SIRT1 は、そのカロリー制限の効果の多くを媒介することが報告されている。申請者は、小腸幹細胞に焦点を当て、カロリー制限下での小腸幹細胞の自己複製制御機構

(NAD<sup>+</sup>-SIRT1-mTORC1 経路) を明らかにして、発表した(Igarashi M and Guarente L, Cell. 2016)。

また、腸は、栄養吸収、GLP-1 などのホルモン分泌、腸内細菌叢などを通じて、糖代謝の制御に重要な役割を持つ臓器である。SIRT1 は、膵臓、肝臓、脂肪、骨格筋など多くの臓器を介して糖代謝に重要な役割をもつことが報告されているものの、腸を通じた糖代謝の制御については、まだ明らかにされていない。そして、各組織の SIRT1 活性は、加齢とともに低下することが報告されている。このような背景のもと、本研究では、未だ明らかにされていない、SIRT1 による分化腸内分泌細胞を通じた糖代謝制御機構を解明するとともに、その加齢による分化腸内分泌細胞の変化との関わりを明らかにしていく。

## 2. 研究の目的

腸管上皮に発現する SIRT1 を通じた L 細胞制御、糖代謝制御を詳細に検討し、その背景となる分子メカニズムを明らかにする。

## 3. 研究の方法

### A. SIRT1 ノックアウトマウスの表現型の解析

腸管上皮 SIRT1 の血中 GLP-1 濃度と耐糖能に対する効果が、腸管内分泌細胞を通じた効果であることを確かめるため、腸管上皮特異的 SIRT1 ノックアウト (Villin cre floxed SIRT1) マウス、腸管内分泌細胞特異的 SIRT1 ノックアウト (Neurogenin3 cre floxed SIRT1) マウスを用いる。高脂肪食を負荷した Villin cre floxed SIRT1 マウス、Neurogenin3 cre floxed SIRT1 マウスを用いて、OGTT や ITT を施行し、腸管上皮に発現する SIRT1 の糖代謝への影響を調べる。ホルモン受容体アンタゴニストにより、特定の腸管ホルモンの作用を抑制し、その糖代謝への影響を調べる。

### B. SIRT1 欠損が腸管内分泌細胞数を増加させるメカニズムの解明

Villin cre floxed SIRT1 (VilKO) マウスないし Neurogenin3 cre floxed SIRT1 マウスから単離した腸管上皮について遺伝子発現の解析を行い、SIRT1 ノックアウトマウスにおいて活性化されている腸管内分泌細胞の分化経路を同定する。また、不死化内分泌細胞株 GLUTag や STC-1 を用いて、分化メカニズムを明らかにする。

## 4. 研究成果

### A. SIRT1 ノックアウトマウスの表現型の解析

・高脂肪食を負荷した腸管上皮特異的 SIRT1 ノックアウト (VilKO) マウスおよび内分泌細胞特異的 SIRT1 ノックアウト (Neurogenin3 cre floxed SIRT1) マウスで、ChromograninA 陽性細胞数、GLP-1 陽性 L 細胞数、血中活性型 GLP-1 濃度がコントロールと比べ 2 倍ほど増加した。内分泌細胞特異的な SIRT1 欠失の効果であることが確かめられた。

・GLP-1 アンタゴニスト Exendin9-39 の 2 週間腹腔内注射を行うと、VilKO マウスでの耐糖能改善や体重減少の効果をキャンセルした。

### B. SIRT1 欠損が腸管内分泌細胞数を増加させるメカニズムの解明

・VilKO マウスの腸絨毛の定量 PCR を行うと、転写因子 Neurogenin3 の発現が特異的に上昇している。

・SIRT1 阻害効果のあるニコチンアミドで短時間処理した不死化内分泌細胞株 GLUTag 細胞および STC-1 細胞を解析すると、Neurogenin3 が特異的に上昇した。

・HDAC 阻害剤トリコスタチン A で短時間処理した不死化内分泌細胞株 GLUTag 細胞および STC-1 細胞を解析すると、Neurogenin3 mRNA が特異的に上昇した。

これらの結果は、SIRT1 欠失によるタンパク脱アセチル化、ヒストン脱アセチル化のみならず、HDAC による脱アセチル化も腸管内分泌細胞分化制御に重要な役割を持つことを示している。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 2 件)

1. Igarashi M, Miura M, Williams E, Jaksch F, Kadowaki T, Yamauchi T, Guarente L. NAD+ supplementation rejuvenates aged gut adult stem cells. *Aging Cell*. 18(3):e12935.2019
2. Das A, Huang GX, Bonkowski MS, Longchamp A, Li C, Schultz MB, Kim LJ, Osborne B, Joshi S, Lu Y, Treviño-Villarreal JH, Kang MJ, Hung TT, Lee B, Williams EO, Igarashi M, Mitchell JR, Wu LE, Turner N, Arany Z, Guarente L, Sinclair DA. Impairment of an Endothelial NAD+-H2S Signaling Network Is a Reversible Cause of Vascular Aging. *Cell*. 173:74-89. 2018.

〔学会発表〕（計 6 件）

1. 第 19 回日本抗加齢医学会総会(2019 年)  
五十嵐正樹「ニコチンアミドリボシド（NR）による NAD+/SIRT1/mTORC1 経路の活性化とその老化による幹細胞機能低下への応用」
2. 第 61 回日本老年医学会学術集会(2019 年)  
五十嵐正樹「ニコチンアミドリボシドによる NAD+/SIRT1/mTORC1 経路の活性化とその加齢による幹細胞機能低下への応用」
3. 第 62 回日本糖尿病学会年次学術集会(2019 年)  
五十嵐正樹「腸管上皮に発現する長寿遺伝子 SIRT1 のインスリン抵抗性への関わりの解明」
4. 第 92 回日本内分泌学会学術総会(2019 年)  
五十嵐正樹「長寿遺伝子 SIRT1 によるインクレチン制御とその糖代謝への影響」
5. 6th Symposium of the Smart-Aging Research Center, Tohoku University (2019)  
Masaki Igarashi 「NAD+, Sirtuin and gut stem cell aging」
6. 第 39 回日本肥満学会(2018 年)  
五十嵐正樹「腸管上皮の加齢性変化と長寿遺伝子 SIRT1 活性に着目した肥満、インスリン抵抗性の制御」

〔図書〕（計 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

○取得状況（計 件）

名称：  
発明者：

権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：  
ローマ字氏名：  
所属研究機関名：  
部局名：  
職名：  
研究者番号（8桁）：

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：  
ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。