

令和 3 年 5 月 30 日現在

機関番号：12301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23958

研究課題名（和文）臨床応用を目指した生体内における新規グルカゴン分泌制御機構の解明

研究課題名（英文）Study of new glucagon secretion mechanism for clinical application

研究代表者

須賀 孝慶（Suga, Takayoshi）

群馬大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：40848686

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：膵細胞から分泌されるグルカゴンの分泌メカニズムは十分に解明されていない。最近我々は、膵細胞にはNa⁺と一緒にグルコースを細胞内に共輸送するナトリウム/グルコース共役輸送体（SGLT）-1が発現していることを報告した。しかしこの膵細胞SGLT-1が実際に生体内で内因性グルカゴン分泌に影響しているかは不明であった。本研究ではSGLT特異的基質をマウスに投与して血中グルカゴン濃度を評価したところ、controlと比較して有意な血中グルカゴン濃度の上昇が認められ、膵細胞SGLT-1が生体内においても実際に内因性グルカゴン分泌を制御している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において膵細胞SGLT-1が生体内においても実際に内因性グルカゴン分泌を制御している可能性が示唆された。糖尿病ではグルカゴンの分泌異常が知られているが、そのメカニズムを解明する上で、膵細胞SGLT-1の観点から有用な情報を提供できる可能性がある点が、本研究の意義である。

研究成果の概要（英文）：The mechanism of glucagon secretion from pancreatic β cells has not been fully elucidated. We recently reported that sodium-glucose cotransporter (SGLT) -1 is expressed in pancreatic β -cells. However, it was unclear whether this pancreatic β -cell SGLT-1 actually regulates endogenous glucagon secretion in vivo. In this study, we found that SGLT-specific substrate significantly increased plasma glucagon concentration in mice compared to control, which indicated that pancreatic β -cell SGLT-1 regulates glucagon secretion in vivo.

研究分野：消化器病学

キーワード：グルカゴン 脂肪肝 肥満 糖尿病

1. 研究開始当初の背景

糖尿病の原因は、膵細胞から分泌される血糖降下ホルモンであるインスリンの分泌不全、抵抗性に加え、膵細胞からのグルカゴン分泌異常による内因性糖産生増加が起因している。しかしながら、グルカゴン分泌のメカニズムは十分に解明されていない。

最近申請者は膵細胞には sodium glucose cotransporter (SGLT) 1 が発現していることを報告した (Suga *et al.* Mol Metab. 2019)。この SGLT-1 は細胞内外の Na⁺濃度勾配差を駆動力として Na⁺と一緒にグルコースを細胞内に共輸送するトランスポーターである。また申請者は培養細胞株である TC-1 細胞を用いた *in vitro* 実験において、SGLT 特異的基質である MG (非代謝性グルコースアナログ) が細胞内 Ca²⁺濃度上昇を伴ってグルカゴン分泌を制御していることも併せて見出した。

このことから、「膵細胞には SGLT-1 を介した Na⁺と基質 (グルコース) の共輸送によるグルコース代謝非依存性の新たなグルカゴン分泌制御機構が存在する可能性」が示唆された。しかしながら、生体内 (*in vivo*) において膵細胞 SGLT-1 が内因性グルカゴン分泌に影響しているかは不明である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、生体内における新規グルカゴン分泌制御機構を解明することである。SGLT 特異的基質 (MG) を用いた *in vivo* における膵細胞 SGLT-1 のグルカゴン分泌制御機構の解明を目指す。

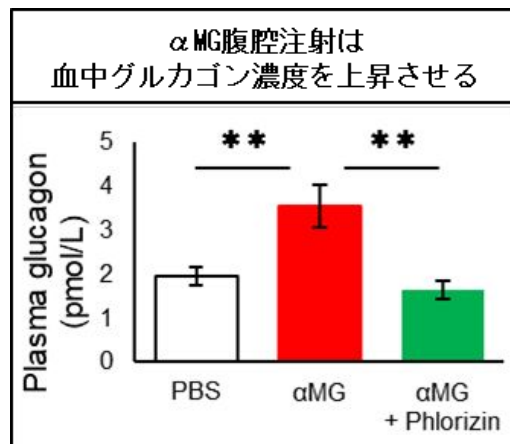
3. 研究の方法

普通食飼育および高脂肪高シヨ糖食負荷飼育の C57BL/6J マウスに対して SGLT 特異的基質 (MG) 溶液の腹腔注射を行い、マウスの血中グルカゴン濃度を評価する。対照群には PBS を投与する。注射後に採血を行い、血中グルカゴン濃度および血糖値を測定する。また SGLT 阻害剤 phlorizin による前処置によって MG 誘導性の内因性グルカゴン分泌がキャンセルされるかどうかを検証する。さらには MG 溶液の腹腔注射後、マウス肝臓における肝糖新生酵素の発現上昇が認められるかどうかを検証する。

4. 研究成果

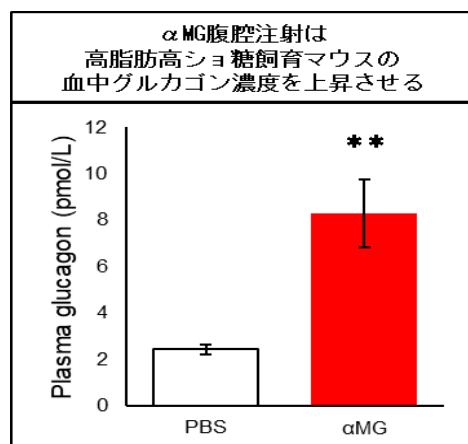
(1) 普通食飼育マウスにおける MG 誘導性血中グルカゴン濃度の評価

普通食飼育の C57BL/6J マウスに対して SGLT 特異的基質 (MG) 溶液の腹腔注射を行ったところ、対照群 (PBS 投与) と比較して有意に血中グルカゴン濃度の上昇が確認された。また MG 溶液の腹腔注射をしたマウスの血糖値は、対照群 (PBS 投与) と比較して有意に上昇した。このことから MG 溶液の腹腔注射により血中グルカゴン濃度上昇が誘導され、グルカゴンによる血糖上昇効果が見られたと推察された。また SGLT 阻害剤 phlorizin による前処置を行うと、MG の腹腔注射による血中グルカゴン濃度上昇はキャンセルされた。よって MG 誘導性の血中グルカゴン濃度上昇は、SGLT を介した効果である可能性が考えられた。



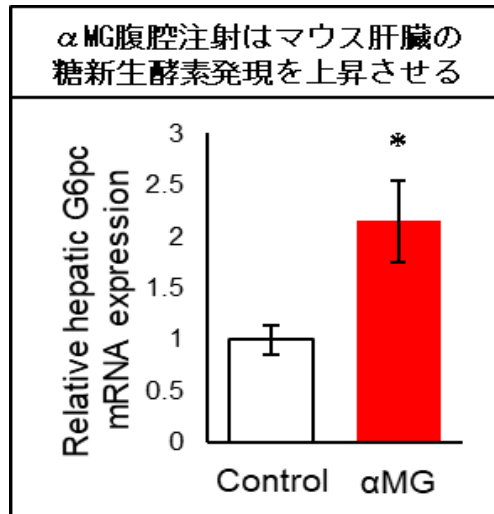
(2) 高脂肪高シヨ糖食負荷飼育マウスにおける MG 誘導性血中グルカゴン濃度の評価

高脂肪高シヨ糖食負荷飼育のマウスに対しても同様に SGLT 特異的基質 (MG) 溶液の腹腔注射を行ったところ、対照群 (PBS 投与) と比較して有意に血中グルカゴン濃度の上昇が確認された。高脂肪高シヨ糖食負荷飼育のマウスにおける MG 誘導性の血中グルカゴン濃度の上昇効果は、普通食飼育のマウスよりもより顕著に認められた。また血糖値においてもより顕著な上昇が認められた。



(3) MG 腹腔注射後のマウス肝臓における肝糖新生酵素関連遺伝子の発現解析

高脂肪高シヨ糖食負荷飼育のマウスに MG 溶液の腹腔注射後、マウス肝臓の遺伝子発現変化を解析したところ、肝糖新生酵素関連遺伝子 (G6pc mRNA) の有意な発現上昇が認められた。このことから、MG の腹腔注射により血中グルカゴン濃度上昇が誘導され、グルカゴンによる肝糖新生亢進を伴って血糖値上昇が生じている可能性が考えられた。



(4) 総括

これまでの研究成果により SGLT 特異的基質 (MG) の「腹腔注射」による膵 細胞を含めた全身の SGLT-1 刺激によって、*in vivo* においてもグルカゴン分泌が促進される可能性が確認された。この結果を踏まえ、本研究は以下 2 点の臨床応用の可能性が今後期待される。

SGLT-1 は膵 細胞ではなく膵 細胞に発現していることから、MG は膵 細胞のみを標的とした内因性グルカゴン分泌を促進させるツールとして利用できる。

糖尿病モデルマウス (高脂肪高シヨ糖食負荷飼育のマウス) において MG 誘導性のグルカゴン分泌亢進がより顕著に認められたため、MG を用いた血中グルカゴン濃度の評価は糖尿病患者の新規診断方法に繋がる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 Methyl -D-Glucoside(MG)の糖尿病、肥満、脂肪肝に対する診断・治療的使用	発明者 須賀孝慶、北村忠弘	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、IP2020-004	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------	---------