

令和元年6月19日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09799

研究課題名(和文) インスリン分泌機構における3つの新規分子基盤の解明

研究課題名(英文) Elucidation of three new molecular bases in the mechanisms of insulin secretion

研究代表者

駒津 光久 (Komatsu, Mitsuhsa)

信州大学・学術研究院医学系・教授

研究者番号：90221978

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究期間に、膵細胞に関する3つの業績を得た。膵細胞甘味受容体がインスリン分泌刺激機構で重要な役割を果たしている可能性について著書として出版した(ISBN 978-981-13-0002-8)。細胞質甲状腺ホルモン結合タンパクノックアウトマウスが高脂肪食負荷で耐糖能障害と肥満を惹起することを見出し、論文化した(BBRC. 2019;508:914-20)。膵細胞株を用いた検討で、エストロゲンが膵細胞におけるインスリン転写活性を抑制する事実とその分子機構を明らかにした(In Vitro Cell Dev Biol Anim. 2019; 55:226-36)。

研究成果の学術的意義や社会的意義

世界的な健康問題である2型糖尿病はインスリン分泌が不足することで発症・進展する。我々は30年以上にわたるインスリン分泌機構の解明に努めてきた。本研究期間には甘味受容体のインスリン分泌機構への関与に関する最新知見を整理し、さらに環境ホルモンがインスリン分泌を障害し糖尿病の急増に関連しているという魅力的な仮説を支持する基礎データ(エストロゲンがインスリン転写活性を抑制する)が得られた。また、2型糖尿病の発症促進要因である肥満に関して、その発症に関与する新たな分子基盤を提唱できた。これらのことは2型糖尿病発症機構の解明や治療法の開発に将来的展望を与える。

研究成果の概要(英文)：During the study period, three achievements on pancreatic cells were obtained. (1) We published as a book about the possibility that sweet taste receptors in pancreatic cells play an important role in glucose stimulation of insulin secretion (ISBN 978-981-13-0002-8). (2) We found that cytoplasmic thyroid hormone binding protein knockout mice cause glucose intolerance and obesity under high-fat diet load, and examined the details and published them (Biochem Biophys Res Commun. 2019; 508 (3): 914-920). (3) There have been many reports that conventional estrogen works to promote insulin transcription activity of pancreatic cells, but in studies using pancreatic cell lines, the fact that estrogen suppresses the transcriptional activity of insulin in pancreatic cells and its molecular mechanism was elucidated and reported (In Vitro Cell Dev Biol Anim. 2019; 55 (4): 226-236).

研究分野：内分泌代謝学

キーワード：インスリン ブドウ糖 インクレチン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ブドウ糖による新規のインスリン分泌刺激機構を探索していた。その過程で膵細胞内の蛋白のアシル化が重要であることがわかり、その同定を模索していた。また、インクレチン作用に関する新しい作用機序を発見し、それを発展させたかった。また、膵細胞膜に甘味受容体が存在することを共同研究者の小島至博士が発見し、そのご共同でマウスにおける甘味受容体がブドウ糖受容体として働いているのではないかとの仮説を支持するデータがでた。

2. 研究の目的

1) 膵細胞でインスリン分泌機構にかかわるアシル化蛋白の同定 2) ブドウ糖とインクレチンの相互作用の分子基盤の解明 3) 甘味受容体のインスリン分泌における役割の解明

3. 研究の方法

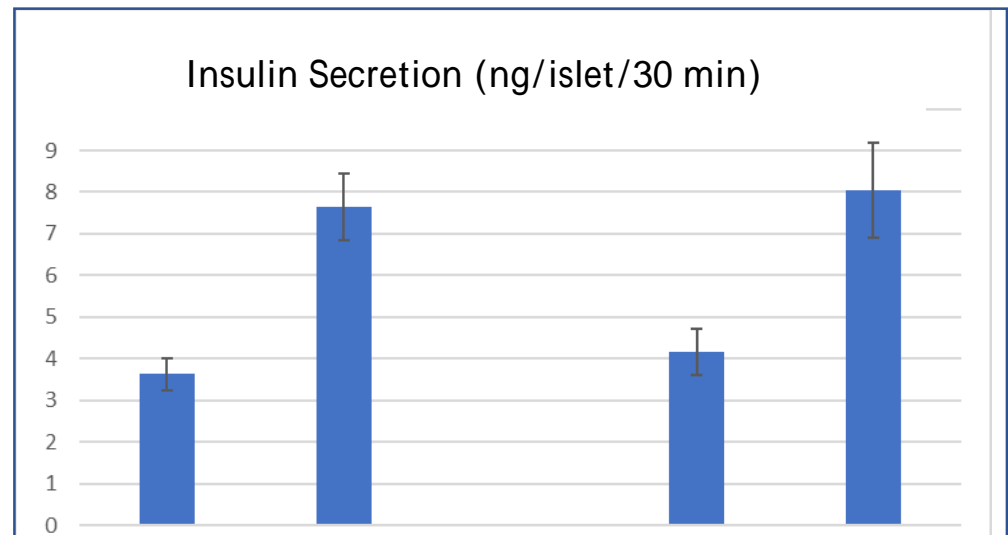
1) LC/MS と 2次元電気泳動でプロテオーム解析をすすめた 2) ブドウ糖とインクレチンのインスリン分泌プールにたいする効果の共通点と相違点を明らかにするためインスリン分泌実験を実施した。3) ラットにおいて甘味受容体の選択的阻害薬ではラクチゾールの作用を検討した。

4. 研究成果

1) プロテオーム解析をすすめたが、候補となる蛋白が多く得られたものの機能的に意味のある特定の蛋白同定には至らなかった。2) ブドウ糖とインクレチンのインスリン分泌プールにたいする効果の共通点と相違点を明らかにした。Ca²⁺存在下でブドウ糖は 2 相性のインスリン分泌を惹起するが、Ca²⁺非存在下ではインスリン分泌は全く起こらない。しかし、45 分間ブドウ糖で刺激後、一度低濃度ブドウ糖緩衝液で洗浄し、次に脱分極刺激による Ca²⁺刺激性インスリン分泌を観察すると、最初の刺激時に Ca²⁺が存在していなくても、2 回目の Ca²⁺刺激性インスリン分泌はブドウ糖の濃度依存性に強力に増強された。すなわち、ブドウ糖は Ca²⁺非依存性にインスリン分泌可能な Readily Releasable Pool(RRP)を増加させるという我々の従来の考えを補強する新たな証拠となった。インクレチンのインスリン分泌増強作用のセカンドメッセンジャーである cAMP の RRP に対する効果も検討した。cAMP がブドウ糖濃度依存性に RRP を増幅することは、すでに報告しているが、そのタイムコースを詳細に灌流実験で調べたところ、二つの作用が含まれていることがわかった。「RRP 量の増加」と「Ca²⁺に対する反応速度の促進」である。前者は主に高濃度ブドウ糖刺激で著明であり、後者は生理的ブドウ糖濃度内で認められる。このような速度の変化はプロテインキナーゼ C の活性化では見られなかった。インクレチンの生理的インスリン分泌制御作用の新たな理解に資する結果と考えている。ブドウ糖による RRP の増大は蛋白アシル化の抑制薬である cerulenin で抑制され、アシル化を模倣するパルミチン酸の投与で一部再現された。これらの所見は、その分子機構にブドウ糖による蛋白アシル化が関与している我々の仮説に矛盾しない。これらの所見は論文化の途中である。3) ラットにおいて甘味受容体の選択的阻害薬であるラクチゾールはインスリン分泌を全く抑制しなかった(図1)。ラットとマウスの違いか、実験条件の違い

が考えられるが、ラット膵細胞における甘味受容体の意義について、知見はえられなかった。

図1 Lactisole has no effect on glucose-stimulated insulin release from rat pancreatic islets



Glucose (mM)	2.8	16.7	2.8	16.7
Lactisole (10 mM)	0	0	10	10

4) 当初の計画には明記しなかったが、細胞質甲状腺ホルモン結合蛋白(CRYM)の欠損マウスを高脂肪食で飼育すると、野生型にくらべて体重増加が著しいことと、耐糖能異常を引き起こすことが確認され、この系の表現型を詳細に検討し、論文にまとめた(発表論文1、Ohkubo Y et al. BBRC 2019, 508:914-920。5) 環境ホルモンと膵細胞の機能の関連があるとする大胆な仮説のもと、エストロゲンの膵細胞株に対する効果を詳細に検討し、従来のデータとは逆に、エストロゲンがインスリンの転写活性を抑制し、その分子メカニズムまで明らかにできた。エストロゲン類似の環境ホルモンの近年の増加がインスリン分泌能を低下させ、糖尿病の爆発的な増加に一翼をになっている可能性があると考え、今後もこの観点から研究を続けていく(発表論文2、Sekido T et al. In Vitro Cell Dev Biol Anim. 2019 ;55:226-236

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 2 件)

1. Ohkubo Y, Sekido T, Nishio SI, Sekido K, Kitahara J, Suzuki S, Komatsu M. Loss of μ -crystallin causes PPAR γ activation and obesity in high-fat diet-fed mice. Biochem Biophys Res Commun. 2019 Jan 15;508(3):914-920 (査読あり)
2. Sekido T, Nishio S, Ohkubo Y, Sekido K, Kitahara J, Miyamoto T, Komatsu M. Repression of insulin gene transcription by indirect genomic signaling via the estrogen receptor in pancreatic beta cells. In Vitro Cell Dev Biol Anim. 2019 Apr;55(4):226-236 (査読あり)

〔学会発表〕(計4件)

1. 大久保洋輔、北原順一郎、西尾真一、駒津光久 甲状腺ホルモン受容体 (TR)欠損マウスは高脂肪食を負荷しても野生型と比べて体重が増加しない 内分泌学会学術集会 2019年
2. 大久保 洋輔, 関戸 貴志, 関戸 恵子, 北原 順一郎, 柴田 亮有, 鈴木 悟, 西尾 真一, 駒津 光久 甲状腺ホルモン結合蛋白 μ -Crystallin の欠損は高脂肪食下でマウスに肥満を引き起こす Loss of the thyroid hormone-binding protein μ -Crystallin causes obesity in mice fed a high-fat diet. 分子生物学会 2017年
3. 関戸貴志、大久保洋輔、西尾真一、駒津光久 甲状腺ホルモン結合蛋白(CRYM)の肥満、糖代謝異常に与える影響 日本肥満学会 2017年
4. 西尾真一、関戸貴志、大久保洋輔、駒津光久 甲状腺ホルモン結合蛋白(CRYM)は肥満、耐糖能に關与する。日本甲状腺学会 2017年

〔図書〕(計1件)

1. Aizawa T, Komatsu M. KATP Channel-Independent Pathway and the Glucoreceptor. P37-49. Glucose-sensing Receptor in Pancreatic Beta-cells. Editors: Kojima, Itaru (Ed.) Springer, 2018 ISBN 978-981-13-0002-8

〔産業財産権〕

出願状況(計0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0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名： 小島至

ローマ字氏名： Itaru Kojina

所属研究機関名： 群馬大学

部局名： 生体調節研究所

職名：名誉教授

研究者番号（8桁）：60143492

(2)研究協力者

研究協力者氏名：なし

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。