

令和 3 年 5 月 10 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K09837

研究課題名(和文) 鉱質コルチコイド受容体を介した膵島細胞の慢性炎症とGLP-1分泌調節機序の解明

研究課題名(英文) Mechanism of mineralocorticoid receptor-mediated regulation of GLP-1 secretion and chronic inflammation in pancreatic islet cells

研究代表者

後藤 理英子 (Goto, Rieko)

熊本大学・病院・病院教員

研究者番号：80748020

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：膵 細胞株にエプレレノン投与した群でMR遺伝子、IL-6遺伝子の発現が増加、培養上清GLP-1濃度が増加。Small interfering RNA (siRNA) によるMR遺伝子発現の抑制は、エプレレノン投与によるIL-6遺伝子発現増加を抑制。エプレレノン投与によるIL-6遺伝子プロモーターの活性化にはプロモーター上のMR binding element (MRE) 配列を必要とした。原発性アルドステロン症患者の活性型GLP-1濃度はエプレレノン投与で有意に増加。膵 細胞のMRはIL-6プロモーターのMREに結合してIL-6の発現を誘導し、GLP-1分泌を介して糖代謝に影響を及ぼす。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は原発性アルドステロン症における耐糖能障害の発症機序を解明し、アルドステロン阻害薬の膵保護作用のメカニズムを解明することを目的とした。本研究は、原発性アルドステロン症における耐糖能障害の主因がアルドステロンによる膵島の慢性炎症であること、アルドステロン阻害薬の膵保護作用は膵 細胞の鉱質コルチコイド受容体を介したGLP-1分泌調節機構により発揮されることを解明した。本研究は、原発性アルドステロン症に限らず、レニン-アルドステロン系の亢進した高血圧症患者の新たな糖尿病発症予防、糖尿病進展予防につながるものである。

研究成果の概要(英文)：MR gene and IL-6 gene expression increased and culture supernatant GLP-1 levels increased in the group of pancreatic alpha cell lines treated with eplerenone. Inhibition of MR gene expression by small interfering RNA (siRNA) suppressed the increase in IL-6 gene expression induced by eplerenone. Activation of the IL-6 gene promoter by eplerenone required the MR binding element (MRE) sequence on the promoter. Active GLP-1 levels in patients with primary aldosteronism were significantly increased by eplerenone treatment. MR in pancreatic alpha cells may bind to the MRE on the IL-6 promoter to induce IL-6 expression and affect glucose metabolism via GLP-1 secretion.

研究分野：糖尿病代謝内分泌

キーワード：鉱質コルチコイド受容体 膵 細胞 GLP-1 IL-6

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

原発性アルドステロン相はしばしば耐糖能障害または糖尿病を合併することが報告され、アンジオテンシン受容体拮抗薬には有意な糖尿病予防作用が確認されている。このことよりレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系が何らかの形で耐糖能に影響を及ぼしていることは明らかであるが、その詳細な機序は解明されていなかった。申請者らはこれまでに原発性アルドステロン症患者の耐糖能を解析し、80%の症例に耐糖能異常を認め、その主たる機序としてインスリン抵抗性よりむしろインスリン分泌障害が考えられた。さらに低カリウム血症は38%の症例にしか認められず、原発性アルドステロン症のインスリン分泌障害には低カリウム血症以外の機序が存在すると考えられた。さらにラットへのアルドステロン投与によりラットの膵島に慢性炎症が起こること、鉍質コルチコイド受容体拮抗薬であるエプレレノン投与したラットの膵細胞でIL-6が発現していることを報告した。

2. 研究の目的

本研究は原発性アルドステロン症における耐糖能障害の発症機序を解明し、アルドステロン阻害薬の膵保護作用のメカニズムを解明することを目的とする。このため、以下のことを確認する。

- 1). エプレレノン投与すると膵細胞にIL-6が発現しGLP-1の分泌が増加すること
- 2). 上記の機序が鉍質コルチコイド受容体を介すること

3. 研究の方法

1). アルドステロン過剰状態(Aldosterone群)およびアルドステロン+エプレレノンの投与(E+A群)下で、膵細胞株の鉍質コルチコイド受容体遺伝子とIL-6遺伝子の発現量、培養上清の活性型GLP-1濃度の変化を検討した。

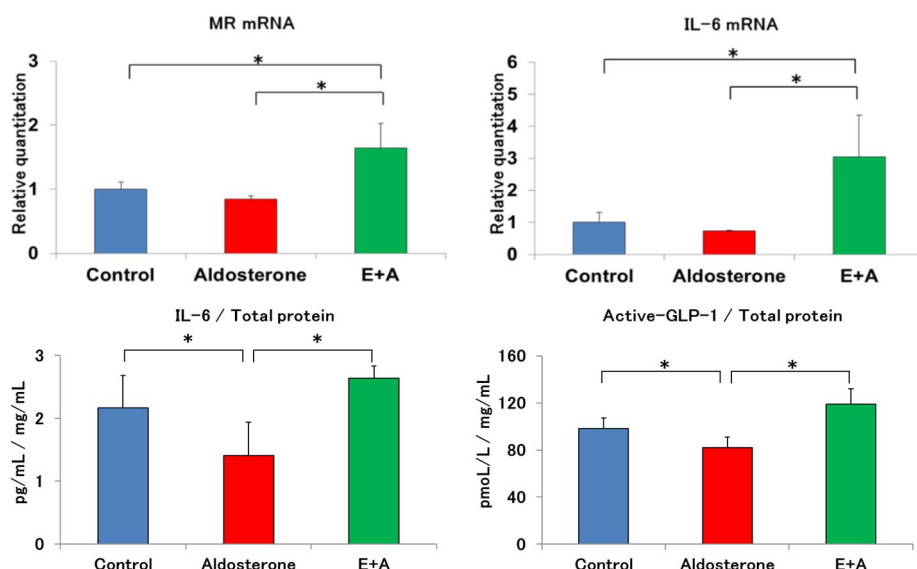
2). 膵細胞の鉍質コルチコイド受容体をSmall interfering RNA (siRNA)によりノックダウンした後にControl群、Aldosterone群、E+A群の3群に分けて培養し、膵細胞におけるIL-6遺伝子発現量の変化を検討した。また、膵細胞株への過剰発現ベクターの導入により膵細胞の鉍質コルチコイド受容体を過剰発現し膵細胞におけるIL-6遺伝子発現量の変化を検討した。

3). IL-6のプロモーター部位のうち、鉍質コルチコイド受容体応答エレメント(MRE)を含む配列(IL-6 Luc)と、MREの遺伝子配列を変異させた配列(IL-6 Mutant Luc)をPGL3ベクターに挿入し、膵細胞株に遺伝子導入したものをControl群、Aldosterone群、E+A群の3群に分けてルシフェラーゼ活性を測定した。

4). 原発性アルドステロン症患者のエプレレノン投与前後に経口ブドウ糖負荷試験を行い、負荷後60分における血中活性型GLP-1濃度の変化を検討した。

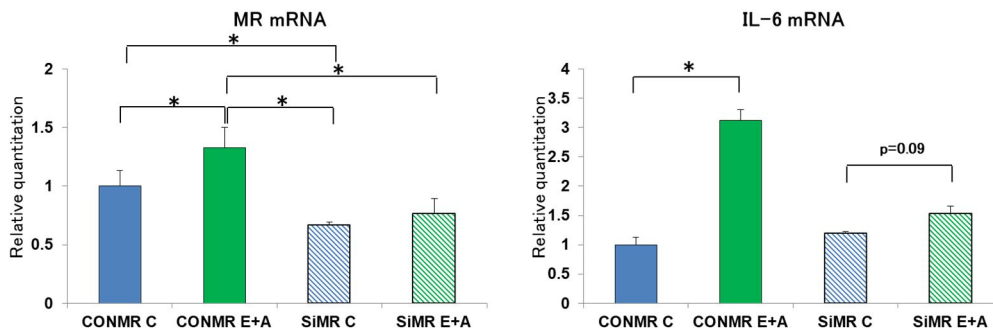
4. 研究成果

1). 膵細胞株にエプレレノン投与したE+A群で鉍質コルチコイド受容体(MR)遺伝子、IL-6遺伝子の発現が増加した。また、Aldosterone群に比較してE+A群で培養上清IL-6濃度、活性型GLP-1濃度が増加した。

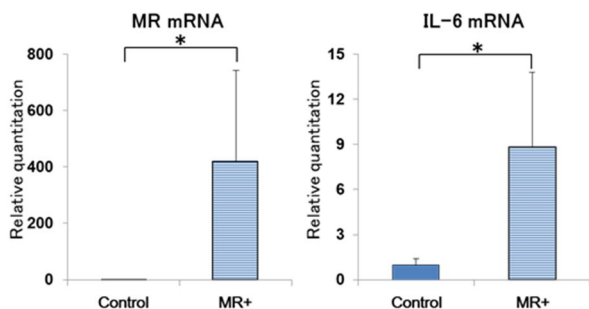


2). siRNAによる鉍質コルチコイド受容体(MR)遺伝子発現の抑制は、エプレレノン投与による

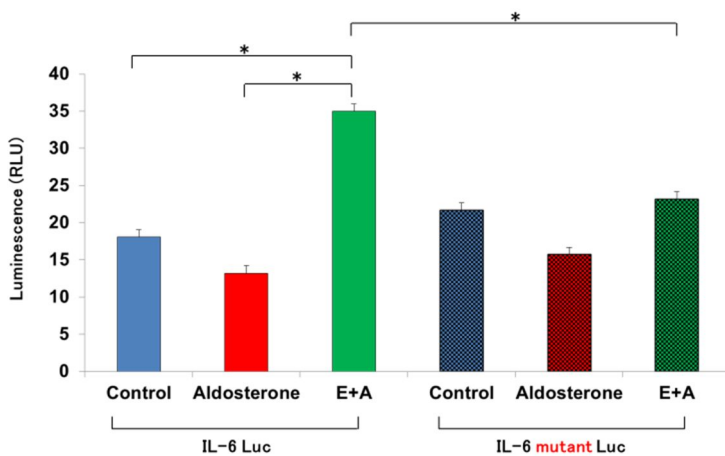
IL-6 遺伝子発現増加を抑制した。



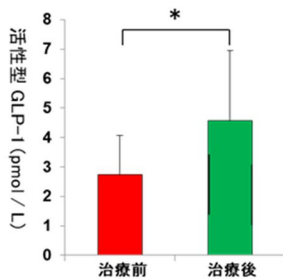
過剰発現ベクターの導入による鉱質コルチコイド受容体(MR)遺伝子発現により腓 細胞株の IL-6 遺伝子発現量が増加した。



3).エプレレノン投与による IL-6 遺伝子プロモーターの活性化にはプロモーター上の MR binding element (MRE) 配列を必要とした。



4).原発性アルドステロン症患者の活性型 GLP-1 濃度はエプレレノン投与で有意に増加した。



以上より、腓 細胞の鉱質コルチコイド受容体は IL-6 プロモーターの MRE に結合して IL-6 の発現を誘導し、GLP-1 分泌を介して糖代謝に影響を及ぼすことが明らかとなった。

< 引用文献 > Elliot WJ, et al. *Lancet*, 2007

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Goto Rieko, Kondo Tatsuya, Ono Kaoru, Kitano Sayaka, Miyakawa Nobukazu, Watanabe Takuro, Sakaguchi Masaji, Sato Miki, Igata Motoyuki, Kawashima Junji, Motoshima Hiroyuki, Matsumura Takeshi, Shimoda Seiya, Araki Eiichi | 4. 巻 8 |
| 2. 論文標題 Mineralocorticoid Receptor May Regulate Glucose Homeostasis through the Induction of Interleukin-6 and Glucagon-Like peptide-1 in Pancreatic Islets | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine | 6. 最初と最後の頁 674 ~ 674 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm8050674 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 後藤 理英子 |
| 2. 発表標題 膵 細胞の鉱質コルチコイドレセプタ は膵島における IL-6とGLP-1分泌を制御する |
| 3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 後藤理英子 |
| 2. 発表標題 膵 細胞の鉱質コルチコイドレセプタ は膵島における IL-6とGLP-1分泌を制御する |
| 3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会 |
| 4. 発表年 2019年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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 |
|-------------------|--|--|----|
| 研究 分 担 者 | 近藤 龍也 (Kondo Tatsuya) (70398204) | 熊本大学・病院・講師 (17401) | |
| 研究 分 担 者 | 荒木 栄一 (Araki Eiichi) (10253733) | 熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・教授 (17401) | |

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 |
|---------|---------|
| | |