

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K09865

研究課題名(和文) 肝臓のステロール合成抑制による新規血糖低下機構の解明

研究課題名(英文) Reduction of hepatic cholesterol synthesis is associated with hepatic glucose production

研究代表者

永島 秀一 (Nagashima, Shuichi)

自治医科大学・医学部・准教授

研究者番号：30406136

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：コレステロール合成経路を抑制するHMG-CoA還元酵素(HMGCR)阻害薬スタチンによって、耐糖能が悪化することが明らかになっており、コレステロール代謝と糖代謝の関連性が注目されている。この一方で、申請者らは肝細胞特異的HMGCR欠損(L-HMGCRKO)マウスが重度の低血糖を呈することを報告した。本研究では、生体の肝臓におけるHMGCRの抑制が肝臓の糖新生系遺伝子発現を抑制し、これにはあるマイクロRNAクラスターの発現亢進が関与している可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

コレステロール合成経路を抑制するHMG-CoA還元酵素(HMGCR)阻害薬スタチンによって、耐糖能が悪化することが明らかになっており、コレステロール代謝と糖代謝の関連性が注目されている。この一方で、我々はコレステロール合成を肝臓で抑制すると血糖が低下し、これには肝糖新生の低下が関与していることを示した。スタチンによる耐糖能悪化を予防し、さらには糖新生抑制という観点から新たな糖尿病治療薬の開発につながる研究成果が得られた社会的意義は大きいと考えられる。

研究成果の概要(英文)：HMG-CoA reductase (HMGCR) is the rate-limiting enzyme in the cholesterol synthesis pathway. HMGCR inhibitors, statins, which are used to prevent cardiovascular diseases, have propensity to induce hyperglycemia. On the other hand, we showed that liver-specific HMGCR gene knockout (L-KO) mice exhibited low blood glucose and genes associated with hepatic glucose production were decreased in the liver. To investigate the role of HMGCR in the hepatic glucose production, we used the RNA-sequencing technology which can generate comprehensive transcriptomic information. We found out that one microRNA cluster in the liver of L-KO was induced and it may reduce the genes for hepatic glucose production.

研究分野：脂質異常症

キーワード：HMG-CoA還元酵素 スタチン 糖尿病 micro RNA 遺伝子改変動物

1. 研究開始当初の背景

近年、コレステロール合成経路を抑制する HMG-CoA 還元酵素(HMGCR)阻害薬スタチンによる耐糖能悪化が懸念されるようになってきている。スタチンの糖尿病新規発症リスクを調べたメタ解析によると、スタチン全体でそのリスクが約 10%増加すると報告された(Lancet. 2010; 375: 735-42)(JAMA. 2011; 305: 2556-64)。

スタチンによる耐糖能障害の機序として、膵細胞のインスリン分泌能抑制や、脂肪細胞及び筋細胞のインスリン抵抗性増大の機序が示されている(Atherosclerosis. 2011; 215: 1-8)(Sci rep. 2015; 5: 13823)が、脂質代謝及び糖代謝における中心的な役割をもつ肝臓において、スタチンは血糖を上昇させるように作用するのか、血糖を低下させるように作用するかについての研究は限られている。

肝臓のコレステロール代謝と糖代謝を関連付ける制御機構として、脂質代謝に関わる Liver X receptor (LXR)- α /Sterol regulatory element-binding protein (SREBP)-1c 系の糖代謝への作用が挙げられる。核内受容体 LXR- α はコレステロールの代謝産物であるオキシステロールを生理的なりガンドとする転写因子である。肝臓に高発現しており、胆汁酸合成、細胞内のコレステロールの搬出に関わるほか、脂肪酸合成に関わる転写因子 SREBP-1c 遺伝子を誘導する。この SREBP-1c は、インスリンにより活性型に変換され、グルコースからの解糖やグリコーゲン合成といった肝臓の糖利用において重要な glucokinase (Gck)遺伝子発現を正に制御する(J Biol Chem. 2004; 279:30823-29)。また GcK のプロモーター領域には LXR- α binding site も存在する(J Biol Chem. 2009; 284:15071-83)ことから、GcK は LXR- α によって直接的あるいはインスリン/SREBP-1c 系を介して間接的に制御を受けていると考えられている。加えて、肝糖新生に重要な酵素である glucose-6-phosphatase (G6Pase) や phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK)はインスリンによって抑制されるが、LXR- α によっても抑制される(Proc Natl Acad Sci U S A. 2003; 100:5419-24)。スタチンは LXR- α のリガンドであるオキシステロールの産生を抑制することから(Proc Natl Acad Sci USA 2001;98:1477-82)、スタチンによって LXR- α /SREBP1c 経路が抑制され、GcK の抑制と、G6Pase や PEPCK の誘導がなされる可能性がある。既報ではスタチン投与によりヒト肝臓組織の SREBP-1c mRNA の低下、GcK mRNA の低下、ならびに G6Pase mRNA の上昇が観察された(J Intern Med. 2011; 269: 333-9)。これらの挙動はいずれも血糖を上昇させる得るものである。

この一方で申請者らが報告した、肝細胞特異的に HMGCR を欠損させた(L-HMGCRKO)マウスは重度の低血糖を呈した。このマウス肝臓でも SREBP1c mRNA の低下を認めたが、5 週齢で随時血糖は対照群 135.7mg/dL に対し、L-HMGCRKO では 48.3mg/dL と重度の低下を呈し(図 1A)、多くは死亡した。飲水中にグルコースを添加すると、ほとんどの L-HMGCRKO マウスは生存したため、主な死因は低血糖と考えられた。

2. 研究の目的

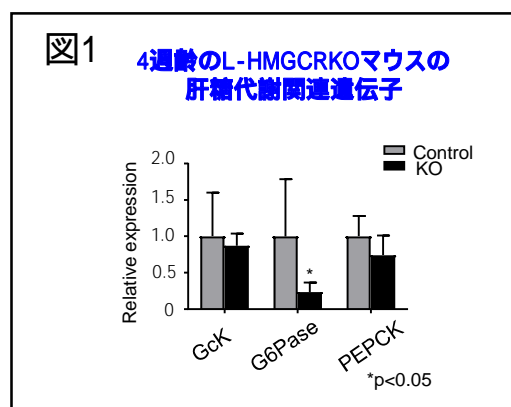
我々は、肝臓におけるコレステロール合成経路の遺伝的な抑制は血糖の低下を来すことを報告したが、スタチンを用いた研究とは異なる結果となった。この差異は、コレステロール合成経路の遺伝子レベルでの抑制と薬理的な抑制という、抑制の方法の違いに起因した可能性がある。我々の遺伝子レベルでの検討により、生体のもつ本来のコレステロール合成経路と糖代謝経路の関連を明らかにできると考えて、このマウスの低血糖機序の解明を行った。

3. 研究の方法

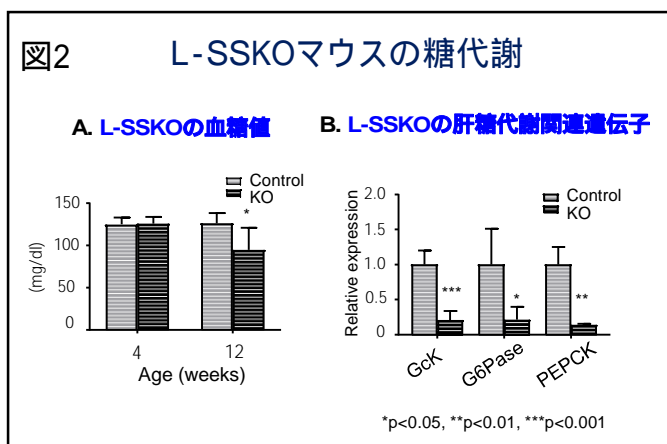
コレステロール合成経路の上流に位置する HMGCR 遺伝子の肝細胞特異的な欠損(L-HMGCRKO) マウス、コレステロール合成経路の下流に位置するスクアレン合成酵素(SS)の肝細胞特異的な欠損(LSSKO)マウス、および HMGCR 遺伝子のマクロファージ(肝クッパー細胞に相当)特異的な欠損マウスを作成し、それらの耐糖能、肝臓の遺伝子発現、さらには網羅的に non-cording lesion まで含めた RNA-sequence 法を用いて、肝臓におけるコレステロール合成経路の抑制が低血糖となる機序を解明した。

4. 研究成果

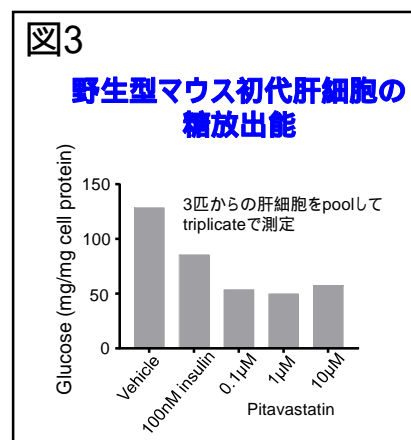
L-HMGCRKO マウスの肝臓において糖代謝関連遺伝子の発現を調べたところ、糖新生に関わる G6Pase mRNA 発現の変化はなかったが、G6Pase mRNA 発現の 77%の低下を見出した(図 1)。



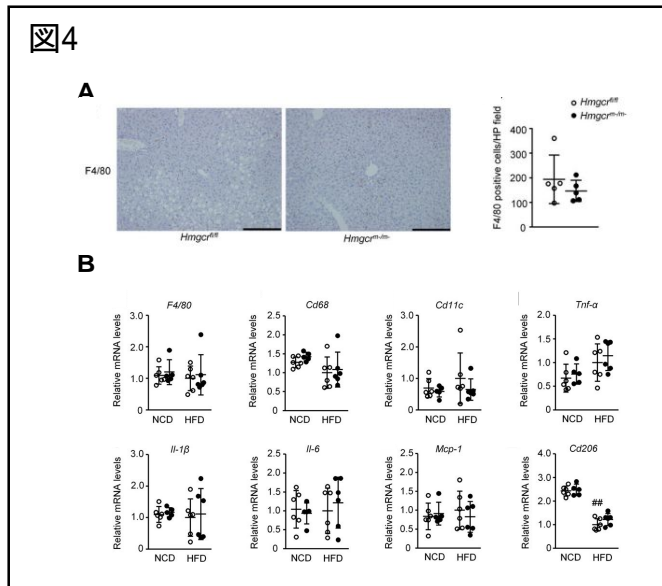
同じくコレステロール合成経路の下流に位置するスクアレン合成酵素(SS)の肝細胞特異的な欠損(L-SSKO)マウスでは 12 週齢の随時血糖は、対照群 126.0mg/dl に対し、L-SSKO では 94.6 mg/dlと低下を認めた(図 2A)。加えて糖新生に関わる G6Pase と PEPCK の mRNA はいずれも約 80%の低下を認めた(図 2B)。



野生型マウスから単離した初代肝細胞にスタチンを添加して、当放出能を調べたところ既報と異なり、糖放出が抑制された(図 3)。従って我々の検討では遺伝子レベルでコレステロール合成経路を抑制しても、薬理的にコレステロール合成経路を抑制しても肝糖新生は抑制されたことになる。



肝臓において糖代謝に関わるものは肝細胞の他、肝臓のマクロファージであるクッパー細胞が挙げられる。マクロファージ(クッパー細胞)特異的な HMGCRCO マウスの肝臓においてはクッパー細胞の数に変化はなく、またクッパー細胞によって影響される炎症性変化に差異はなかったため(図 4AB)、
 で得られた肝糖新生の変化は肝細胞固有の事象であると考えられた。



L-HMGCRCO 肝臓検体を用いて RNA-sequence 法にて網羅的に non-coding lesion を含めた遺伝子変化を調べたところ、FOXO1 を介して、肝糖新生を抑制することが知られている、ある一つの microRNA クラスターの発現亢進が認められた(data 未提示)。このマウスで発現の亢進がみられた microRNA クラスターはこれのみであったため、この microRNA クラスターの関与がコレステロール合成抑制と糖新生を関連させる新たな分子機序である可能性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Takei A, Nagashima S, Takei S, Yamamuro D, Murakami A, Wakabayashi T, Isoda M, Yamazaki H, Ebihara C, Takahashi M, Ebihara K, Ishibashi S	4. 巻 69
2. 論文標題 Myeloid HMG-CoA Reductase Determines Adipose Tissue Inflammation, Insulin Resistance, and Hepatic Steatosis in Diet-Induced Obese Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diabetes	6. 最初と最後の頁 158-164
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2337/db19-0076	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 -
1. 著者名 Sakai K, Nagashima S, Wakabayashi T, Tumenbayar B, Hayakawa H, Hayakawa M,	4. 巻 38
2. 論文標題 Myeloid HMG-CoA (3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme A) Reductase Determines Atherosclerosis by Modulating Migration of Macrophages.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Arterioscler Thromb Vasc Biol	6. 最初と最後の頁 2590-2600
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/ATVBAHA.118.311664.	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 -
1. 著者名 Takei Shoko, Nagashima Shuichi, Takei Akihito, Yamamuro Daisuke, Wakabayashi Tetsuji, Murakami Akiko, Isoda Masayo, Yamazaki Hisataka, Ebihara Chihiro, Takahashi Manabu, Ebihara Ken, Dezaki Katsuya, Takayanagi Yuki, Onaka Tatsushi, Fujiwara Ken, Yashiro Takashi, Ishibashi Shun	4. 巻 69
2. 論文標題 -Cell Specific Deletion of HMG-CoA (3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A) Reductase Causes Overt Diabetes due to Reduction of -Cell Mass and Impaired Insulin Secretion	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diabetes	6. 最初と最後の頁 2352 ~ 2363
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2337/db19-0996	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 -
1. 著者名 Nagashima Shuichi, Wakabayashi Tetsuji, Saito Naoko, Takahashi Manabu, Okada Kenta, Ebihara Ken, Ishibashi Shun	4. 巻 11
2. 論文標題 Long term efficacy of the sodium glucose cotransporter 2 inhibitor, ipragliflozin, in a case of type 2A insulin resistance syndrome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 1363 ~ 1365
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jdi.13241	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 -

1. 著者名 Yamaoka Keiko, Nagashima Shuichi, Okada Nobukazu, Sawayama Nagisa, Saito Shinsuke, Takahashi Manabu, Okada Kenta, Endo Kazuhiro, Koizumi Masaru, Sasanuma Hideki, Ebihara Ken, Kasajima Atsuko, Fukushima Noriyoshi, Sata Naohiro, Ishibashi Shun	4. 巻 9
2. 論文標題 A case of insulinoma with hypoglycemia that was better managed with lanreotide than octreotide	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Case Reports	6. 最初と最後の頁 e04118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ccr3.4118	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3件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 永島 秀一
2. 発表標題 コレステロール合成系と糖代謝のcross talk
3. 学会等名 日本糖尿病学会年次学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 武井祥子
2. 発表標題 膵 細胞特異的HMG-CoA還元酵素欠損マウスにおける糖尿病発症機序の解析
3. 学会等名 日本糖尿病学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 永島 秀一
2. 発表標題 脂肪組織マクロファージの HMG-CoA 還元酵素欠損は食事誘 発性肥満のインスリン抵抗性を改善する
3. 学会等名 第41回日本肥満学会・第38回日本肥満症治療学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2021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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------