

令和 3 年 6 月 5 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08516

研究課題名(和文) 低炭水化物/高蛋白食で誘導される膵細胞量増加と白色脂肪細胞褐色化の機序の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of pancreatic alfa cell mass increase and white adipocyte browning induced by a low-carbohydrate/high-protein diet

研究代表者

奥屋 茂 (Okuya, Shigeru)

山口大学・教育・学生支援機構・教授

研究者番号：20214083

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：栄養変化に対して、膵内分泌細胞がどのような挙動を示すかは不明な部分が多い。マウスに低炭水化物/高タンパク食(LC/HP食)を1-2週間負荷したところ、対照群に比し、血糖値に有意差を認めないが、肝グリコーゲン含量低下、血中グルカゴン増加・インスリン低下、膵グルカゴン陽性細胞量増加、主に膵管周囲の細胞塊とその近傍膵島周囲での細胞出現を確認した。さらに、肝求心性迷走神経切断術や膵内交感神経薬理的遮断を行うと、細胞集団出現と細胞量増加が完全に抑制された。すなわち、肝臓を起点とする神経ネットワークを介した新たな膵細胞量制御機構が存在することが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の我々の研究により、比較的短期間のLC/HP食で誘導される、代謝臓器である肝臓を起点とする神経ネットワークを介した新たな膵細胞量制御機構が存在することが判明した。さらに、膵管近傍細胞から分化・新生した細胞は、交感神経系を介した細胞新生・増殖であり、このような報告は未だされておらず、これは“膵細胞量の調節機構”を解明する上で貴重なモデルと考えられる。さらに、膵管結紮モデルでの観察より膵幹細胞は傍膵管のfocal areaに存在するといわれており、我々の観察はそれを裏付けている可能性がある。このモデルを解析することで、自律神経を介した新たな膵内分泌機能制御の解明が期待される。

研究成果の概要(英文)：It is unclear how pancreatic endocrine cells behave in response to nutritional changes. When mice were loaded with a low-carbohydrate/high-protein diet (LC/HP diet) for 1 to 2 weeks, there was no significant difference in blood glucose levels compared to the control diet group. But, it was confirmed that (1) decrease of hepatic glycogen content, (2) increased blood glucagon and decreased insulin, (3) increase of pancreatic glucagon-positive cell volume, and (4) increment of cell mass mainly around the pancreatic duct and cell appearance around the pancreatic islets in the vicinity. Furthermore, (5) hepatic afferent vagotomy and pancreatic sympathetic neuropharmacological blockade completely suppressed the appearance of cell population and increase in cell mass. Therefore, it was found that there is a new control mechanism of pancreatic cell mass via a neural network originating from the liver.

研究分野：内分泌代謝

キーワード：グルカゴン 膵細胞 低炭水化物 高蛋白質

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肥満が関与する2型糖尿病の病態を改善する方法として、体内の脂肪“余分なエネルギー”の燃焼・消費効率を高める低炭水化物食の有用性が提唱され、低炭水化物食で体重・血糖値・HbA1cの有意な改善を確認した報告もある。このような栄養変化に対して、膵内分泌細胞がどのような挙動を示すかは依然として不明な部分が多い。また、糖質制限(低炭水化物)はインスリン分泌を節約し、一方アミノ酸(高蛋白)はグルカゴン分泌を刺激する。このような背景をもとに、我々は従来の研究で、低炭水化物/高蛋白食(LC (low carbohydrate)/HP (high protein)食)[炭水化物 8%; 蛋白質 65%; 脂質 27%]を長期間摂餌させたマウス(C57/BL6j)での観察を行い、高グルカゴン血症/低インスリン血症とともに、膵細胞の著明な増加と脂質エネルギー利用が亢進することを見出していた。

2. 研究の目的

前述のような従来の観察結果に基づき、本研究では、

(1)栄養摂取バランスの変化(低炭水化物-高蛋白(LC/HP))による膵細胞量増加、高グルカゴン血症発生のメカニズムの解明

(2)グルカゴンによる新たなエネルギー代謝調節の可能性、すなわちグルカゴンによる白色脂肪細胞褐色化増加の可能性とそのメカニズム解明

に焦点を当てた研究を行う。

グルカゴンを介した新たな代謝調節機構を明らかにすることで、その先にある抗肥満治療への新たな展開も期待される。

3. 研究の方法

(1)エネルギー代謝・膵内分泌機能に対する LC/HP 食の急性効果：

C57/BL6j マウスに LC/HP 食を 7-14 日間負荷し、血中グルカゴン・インスリン・アミノ酸・ケトン体・脂肪酸、肝グリコーゲン含量を測定し、コントロール食群と対比させる。免疫染色で膵細胞量・膵細胞量を測定し、Ki67 染色や BrdU 取り込みで細胞増殖の程度を評価する。さらに、LC/HP 食 通常食の摂餌マウスでの細胞増殖を検討する。

(2)LC/HP 食による膵細胞増殖を制御する臓器連関経路の検討：

肝臓 中枢神経 膵臓、あるいは、視床下部 膵臓(肝臓を介さない)の臓器連関経路を想定して、迷走神経肝臓枝、薬剤性交感神経遮断マウスに LC/HP 食を 7 日間負荷する。施術・偽手術、あるいは薬剤処理マウスで、血中グルカゴン・インスリン、膵細胞量・増殖を解析し対比させる。交感神経遮断により膵細胞増殖が消失すれば、神経ネットワークを介した臓器連関が示唆される。肝臓枝切断で膵細胞増殖が消失すれば、肝臓からの求心路を介していることとなり、これに関わる肝臓での代謝シグナル同定に向けて研究を展開する。一方、肝臓枝切断で膵細胞増殖あるいは新生に変化がなければ、視床下部からの遠心路を介した制御が想定され、弓状核での膵細胞量制御に関わる神経群の同定を試みる。

4. 研究成果

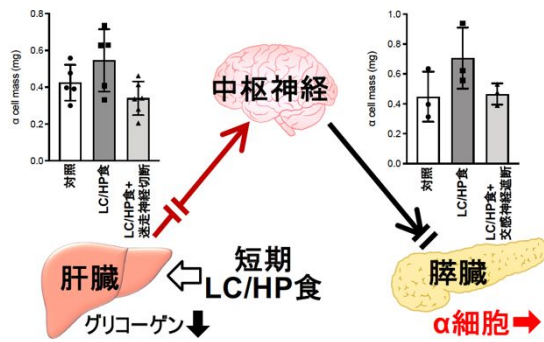
(1)エネルギー代謝・膵内分泌機能に対する LC/HP 食の急性効果：



LC/HP 食摂餌開始 2~10 日後に、対照群に比し、血糖値には有意差を認めなかったが、開始 2 日後に最も顕著となる肝グリコーゲン含量低下、血中グルカゴン増加とインスリン低下、膵細胞量の約 2 倍の増加を認めた。この時、傍膵管領域にグルカゴン陽性細胞クラスターが出現しており、その近傍にある膵島における細胞数増加を認めた。さらに、白色脂肪量の有意な減少も確認した。これらの結果より、膵管近傍の細胞から細胞が分化新生したものと推測された。また、この様な細胞新生像には局在が見

られ、抗 Tyrosine hydroxylase 抗体で確認される交感神経の分布と一致したため、中枢神経を介する自律神経系(交感神経系)による細胞調節機構が存在することが想定された。

(2)LC/HP 食による膵細胞増殖を制御する臓器連関経路の検討：



膵 細胞の新生・増殖における自律神経系による調節を想定して、まず、6-hydroxydopamine による膵内交感神経薬理的遮断をマウスで行うと、LC/HP 食負荷による 細胞新生および増殖が認められず、細胞量増加は抑制された。さらに、肝求心性迷走神経遮断術を施行したマウスでは、偽手術施行マウスと比較して、LC/HP 食負荷による 細胞新生・増殖が認められず、細胞量増加が抑制された。

一方、膵 細胞に対する系譜解析では、細胞から 細胞への分化転換は観察されず、細胞増殖能および細胞量にも変化は認められな

かった。

以上の結果は、LC/HP 食で誘導される神経ネットワークを介した膵 細胞量制御を示唆し、栄養変化に対する急性応答機構の一部と考えられた。

一方、長期間の LC/HP 食摂餌マウスでは、褐色脂肪組織において脂肪分解および 酸化に関連する遺伝子発現が増加し、精巣上脂肪組織において熱産生に関わる UCP1 の発現が顕著に増加した。すなわち、脂肪組織における脂質利用亢進と熱産生亢進が示唆され、また血清インスリン値が有意に低下したことから、インスリン感受性の亢進が考えられた。

今回の我々の研究より、比較的短期間の LC/HP 食で誘導される、代謝臓器である肝臓を起点とする神経ネットワークを介した新たな膵 細胞量制御機構が存在することが判明した。さらに、膵管近傍細胞から分化・新生した 細胞は、交感神経系を介した 細胞新生であり、このような報告は未だなされておらず、これは“膵 細胞量の調節機構”を解明する上で、大変貴重なモデルと考えられる。これまでの解析より、新生細胞が膵管上皮細胞に由来しないことが明らかになっており、さらに、膵管結紮モデルでの観察より膵幹細胞が傍膵管の focal area と呼ばれる領域に存在することが提唱されているが、我々の観察はそれを裏付けている可能性がある。したがって、このモデルを解析することで自律神経を介した分化新生に基づく全く新たな膵内分泌機能制御の解明が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 Amo-Shiinoki K, Tanabe K, Hoshii Y, Matsui H, Harano R, Fukuda T, Takeuchi T, Bouchi R, Takagi T, Hatanaka M, Takeda K, Okuya S, Nishimura W, Kudo A, Tanaka S, Tanabe M, Akashi T, Yamada T, Ogawa Y, Ikeda E, Nagano H, Tanizawa Y	4. 巻 6
2. 論文標題 Islet cell dedifferentiation is a pathologic mechanism of long-standing progression of type 2 diabetes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 e143791
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1172/jci.insight.143791	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 Fukuda Tatsuya, Bouchi Ryotaro, Takeuchi Takato, Amo-Shiinoki Kikuko, Kudo Atsushi, Tanaka Shinji, Tanabe Minoru, Akashi Takumi, Hirayama Kazuhiro, Odamaki Toshitaka, Igarashi Miki, Kimura Ikuo, Tanabe Katsuya, Tanizawa Yukio, Yamada Tetsuya, Ogawa Yoshihiro	4. 巻 44
2. 論文標題 Importance of Intestinal Environment and Cellular Plasticity of Islets in the Development of Postpancreatectomy Diabetes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Diabetes Care	6. 最初と最後の頁 1002-1011
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2337/dc20-0864	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kondo M, Tanabe K, Amo-Shiinoki K, Hatanaka M, Morii T, Takahashi H, Seino S, Yamada Y, Tanizawa Y	4. 巻 61
2. 論文標題 Activation of GLP-1 receptor signaling alleviates cellular stresses and improves beta cell function in a mouse model of Wolfram syndrome.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Diabetologia	6. 最初と最後の頁 2189-2201
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00125-018-4679-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 0件/うち国際学会 4件）

1. 発表者名 椎木幾久子、田部勝也、幡中雅行、奥屋 茂、福田達也、竹内崇人、坊内良太郎、山田哲也、小川佳宏、谷澤幸生
2. 発表標題 膵 細胞脱分化は2型糖尿病の病態進展に関連する
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会、大津
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 香川正太、田部勝也、古賀貴之、越智啓行、市来 唯、福山彰吾、鈴木早織、水津菜月、木村郁子、長島史裕
2. 発表標題 八味地黄丸は脂肪組織での熱産生を亢進する
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会、大津
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田部勝也、椎木幾久子、幡中雅行、西村 涉、増谷 弘、谷澤幸生
2. 発表標題 膵島細胞の可塑性と糖尿病における意義 Wfs1欠損により引き起こされた 細胞機能不全の機序としての膵 細胞可塑性
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会、仙台
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 椎木幾久子、田部勝也、佐藤吉彦、駒津光久、奥屋 茂、谷澤幸生
2. 発表標題 膵 細胞脱分化は糖尿病患者の膵 細胞不全に関連する
3. 学会等名 第69回日本体質医学会総会、下関
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tanabe K, Amo-Shiinoki K, Kondo M, Hatanaka M, Masutani M, Tanizawa Y
2. 発表標題 Activation of GLP-1 receptor signaling prevents beta cell dedifferentiation in a mouse model of Wolfram syndrome through modulating Txnip expression.
3. 学会等名 79th American Diabetes Association Scientific Sessions. San Francisco, USA (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tanizawa Y, Tanabe K, Amo-Shiinoki K
2. 発表標題 Metabolic dysregulation by cellular stress is implicated in the dedifferentiation and dysfunction of pancreatic beta cells.
3. 学会等名 55th Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes. Barcelona, Spain (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田部勝也
2. 発表標題 細胞研究の進歩 Wolfram症候群をモデルとしたストレス病態における膵 細胞可塑性制御の解明.
3. 学会等名 第91回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Amo-Shiinoki K, Tanabe K, Hatanaka M, Masutani H, Tanizawa Y
2. 発表標題 Metabolic insufficiency caused by cellular stresses is implicated to beta cell dedifferentiation in a mouse model of Wolfram syndrome.
3. 学会等名 The ADA 78th Scientific Sessions (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Amo-Shiinoki K, Tanabe K, Hatanaka M, Masutani H, Tanizawa Y
2. 発表標題 Metabolic insufficiency caused by cellular stresses is implicated to beta cell dedifferentiation in a mouse model of Wolfram syndrome.
3. 学会等名 The 54th EASD Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田口昭彦、太田康晴、松村卓郎、中林容子、秋山 優、山本 薫、藤本留理子、末富吏佐、柳井章江、篠田 晃、奥屋 茂、谷澤幸生
2. 発表標題 時計遺伝子E4BP4/DBPの膵 細胞における役割の解明.
3. 学会等名 日本糖尿病学会中国四国地方会第56回総会、下関
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 椎木幾久子、田部勝也、幡中雅行、谷澤幸生
2. 発表標題 Wolfram症候群をモデルとした細胞内ストレスによる膵 細胞可塑性制御の解明.
3. 学会等名 日本糖尿病学会中国四国地方会第56回総会、下関
4. 発表年 2018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	田部 勝也 (Tanabe Katsuya) (00397994)	山口大学・医学部附属病院・講師 (15501)	

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