

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16196

研究課題名(和文) 腸管内分泌K細胞GIP合成分泌における細胞内シグナル伝達機構の解明

研究課題名(英文) Identification of intracellular signal transduction mechanisms in enteroendocrine K cells on GIP synthesis and secretion

研究代表者

鈴木 和代 (SUZUKI, Kazuyo)

京都大学・医学研究科・特定助教

研究者番号：90813866

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：食事摂取にตอบสนองして腸管内分泌細胞から分泌され、血糖値依存性にインスリン分泌促進作用(インクレチン効果)を有するペプチドホルモンとしてGastric inhibitory polypeptide (GIP; 別名 glucose dependent insulinotropic polypeptide)とGlucagon-like peptide-1(GLP-1)が知られている。本研究は腸管内分泌K細胞においてGIP合成・分泌に、生物種を越えて存在し細胞内栄養状態を感知して代謝調節する主要なリン酸化伝達経路mTORシグナルが関与しているか検証を試みた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

GIPはインスリン分泌促進作用・脂肪組織へのエネルギー蓄積作用を有しており、特に脂肪摂取は腸管内分泌K細胞からのGIP分泌を増強する。GIPは脂質代謝調節上重要な催肥満ホルモンであると言え、K細胞GIP産生機序の解明は摂食を通じた脂質代謝制御機構を明らかにし肥満症治療薬の創薬にもつながる。本研究課題で、マウス腸管内分泌腫瘍株STC-1を用いて、生物種を越えて存在し細胞内栄養状態を感知して代謝調節する主要なリン酸化伝達経路mammalian target of rapamycin (mTOR)シグナルのK細胞内GIP産生における関与を検討した。

研究成果の概要(英文)：Incretins, gastric inhibitory polypeptide (GIP) and glucagon-like peptide-1 (GLP-1), are a group of peptide hormones that are secreted from enteroendocrine cells in response to meal ingestion and potentiate glucose-dependent insulin secretion from pancreatic β -cells. GIP, also called glucose-dependent insulinotropic polypeptide, secreted from enteroendocrine K-cells located mainly in duodenum and upper small intestine. In this study, we tried to elucidate whether mTOR signaling potentiates incretin secretions or not.

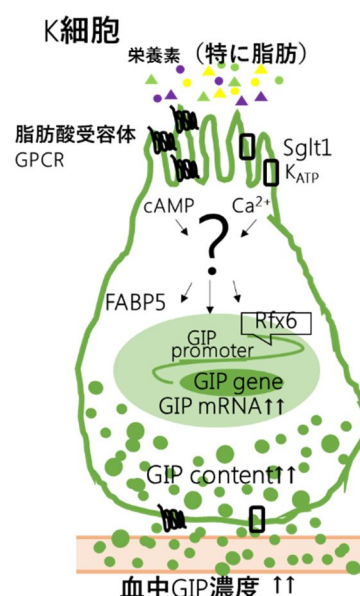
研究分野：糖尿病

キーワード：代謝

1. 研究開始当初の背景

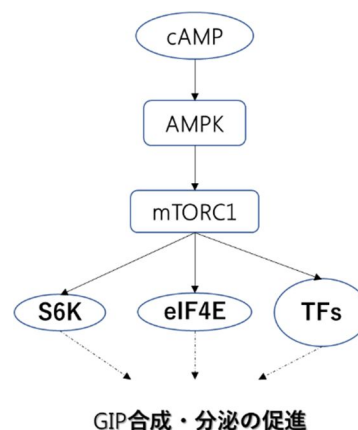
GIP：食事摂取に応答して腸管内分泌 K 細胞から分泌され、血糖値依存性にインスリン分泌を促進する作用（インクレチン効果）を有するペプチドホルモンである GIP は、特に脂質摂取により分泌が増強されること、また肥満状態では血中 GIP 濃度が高いことが示されている。全身性 GIP 受容体欠損マウスは高脂肪食負荷において体重増加が抑制されることを申請者の所属研究室から報告しており (Miyawaki K, Nat Med. 2002)、GIP による脂肪組織の lipoprotein lipase 活性の上昇や、脂肪細胞でのプロテインキナーゼ B (PKB) /Akt リン酸化を介した糖の取り込み亢進 (Song DH. Gastroenterology. 2007) が肥満を強く誘導することが明らかとなっている。

K 細胞における GIP 合成・分泌機構：K 細胞は主に十二指腸から上部小腸に散在して分布しており、栄養素を糖トランスポーター (SglT1) や G タンパク共役型脂質受容体 (GPCR) で直接感知して GIP を細胞基底の血管側に分泌する (Parker HE. Expert Rev Mol Med. 2010)。脂肪等の栄養摂取時の GIP 分泌制御機構の解明は肥満症の病態解明に繋がる重要な課題であるが、K 細胞の腸上皮における存在数が希少であるために解析が困難であり、さらに継代培養できる K 細胞株が得られていないため、栄養素感知から GIP 分泌に至るシグナル経路の詳細については不明である。最近、申請者の所属研究室や他のグループからも K 細胞を蛍光タンパクで可視化した GIP レポーターマウスが作製されたことで、K 細胞のみを分離回収することが可能となり、さまざまな研究が行われるようになってきた (Parker H. E. Diabetologia. 2009)。例えば、GIP-Venus トランスジェニックマウスを用いて、K 細胞にソマトスタチン受容体や神経ペプチドの一種であるガラニン受容体を発現させ、これらの受容体を介した GIP 分泌調節が報告されている (Moss CE. Diabetologia. 2012) (Psichas A. Br J Pharmacol. 2016)。申請者の所属研究室では、独自に作成した GIP-GFP ノックインマウスを用いて、K 細胞に転写因子 Rfx6 や脂肪酸結合タンパク質 FABP5 が高度に発現しており、高脂肪食負荷による肥満状態における GIP 合成・分泌に関与していることを報告している。この結果から、K 細胞に特異的な細胞内シグナル伝達分子が存在する可能性が強く示唆されている。



2. 研究の目的

腸管腔側の栄養素刺激を受容して、GIP を合成・分泌するシグナル伝達経路には、K 細胞特異的な因子があるのではないかと考えた。それを見出すことができれば、栄養摂取と肥満 (脂質代謝) を調節する重要な機構が発見できるのではないかと考えた。腸管上皮細胞の初代培養細胞を用いてアデニル酸シクラーゼ adenylate cyclase (AC) 活性化薬やホスホジエステラーゼ阻害薬のような cAMP を上昇させる物質によって GIP 分泌が誘導されることが報告されている (Moss CE. Diabetologia. 2012)。申請者は、K 細胞において、cAMP 濃度上昇を同じく生体のエネルギーセンサーとして機能する AMP 活性化プロテインキナーゼ (AMPK) /mTORC1 シグナル (Shimobayashi M. Nat Rev Mol Cell Biol. 2014) が感知して GIP 合成・分泌に関与しているという仮説に至った。本研究では、まず、AMPK/mTORC1 シグナルが脂肪摂取時の GIP 分泌に関与しているか明らかにすることを試みた。K 細胞における mTOR シグナルに着目した研究はこれまでになされておらず、特に、栄養素への初期反応シグナルとして mTOR シグナルを位置づけた研究は報告されていない。mTOR シグナル伝達分子を含む、脂肪摂取時に K 細胞で特異的に働く分子群の発見は、脂肪摂取による肥満進展機構のさらなる理解および肥満症治療の創薬に繋がり、また、臨床の患者指導において、患者が脂肪の摂り過ぎによる肥満進展をより明確に理解できる新たな知見は、意欲的に食事療法を実践できるための援助となり得ると考えた。



3. 研究の方法

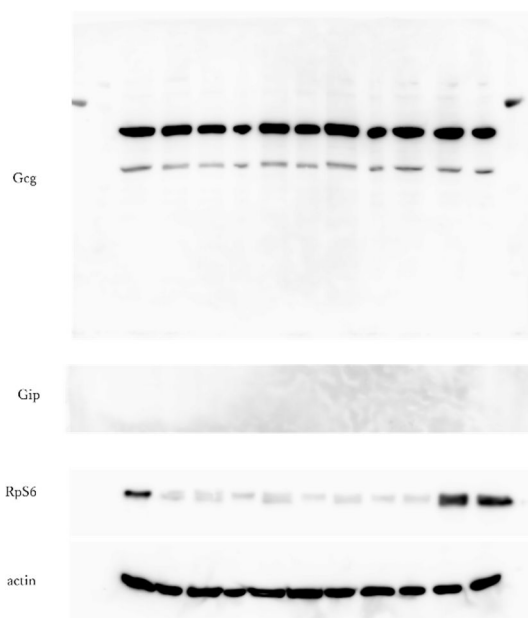
以下の計画を予定した。

- ・ in Vitro (STC-1)mTOR 系を抑制条件または促進条件にした際の GIP 合成・分泌の評価
- ・ in Vivo (マウス)mTOR 系の短期間高脂肪食負荷時の GIP 分泌への影響の評価
- ・ ex Vivo (GIP-GFP マウス単離 K 細胞)K 細胞内 mTOR シグナルリン酸化の評価

腸管内分泌細胞の初代培養は実験系が確立していないため、トランスフェクションが可能なマウス腸管内分泌腫瘍株 SCT-1(Rindi G. Am J Pathol. 1990) を用いて、抑制因子の small interfering RNA 導入および mTOR 阻害剤添加実験を行う。STC-1 は GIP を分泌するためこれまでに広く用いられており、mTOR 発現も確認されているため(Freis P. Oncotarget. 2017)、本研究に最適な細胞株である。mTOR シグナルが GIP 合成・分泌を制御するかを明らかにし、また、K 細胞での発現が確認されている糖トランスポーター、G タンパク共役型脂質受容体、転写因子脂肪酸結合タンパク質、およびリン酸化タンパクについても mTOR シグナルによる発現変化があるか評価する。もし、mTOR 系による GIP 合成の調節が確認されなかった場合には、これらの既報因子への効果を確認し、影響のあるシグナル解析を計画した。また、可能であれば、in Vivo (マウス)での mTOR 系の短期間高脂肪食負荷時の GIP 分泌への影響の評価にも着手を構想した。

4 . 研究成果

マウス腸管内分泌腫瘍株 STC-1 を用いて mTOR 系を抑制条件または促進条件にした際の GIP 合成・分泌の評価を試みた。STC-1 細胞を、既報を参考に mTOR 阻害剤 rapamycin を 0.625-10nmol/l にて添加した培地で 24 時間の培養後に、細胞タンパクを回収し western blot 法にて GIP 合成を評価した。Rapamycin 0.625nmol/l の添加にて、24 時間後の phospho-S6 は抑制されていることから mTOR 系の抑制を確認したが、GIP 発現量に一定した結果を得られず実験条件や使用する抗体の選定を行った。加えて、STC-1 を用いて mTOR 系を抑制した際の Gcg 合成・分泌の評価を行った。上記と同様の条件にて、Gcg は rapamycin 0.625-10nmol/l 添加し 24 時間後に合成の抑制や亢進を認めなかった。再度に GIP および GLP-1 についての評価を試みたが実験系が安定せず課題期間が終了となった。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Bando Masako, Kinugawa Tetsuhiro, Manabe Yuichiro, Masugi Miwako, Nakajima Hiroo, Suzuki Kazuyo, Tsunoyama Yuichi, Wada Takahiro, Toki Hiroshi | 4. 巻 95 |
| 2. 論文標題 Study of mutation from DNA to biological evolution | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 International Journal of Radiation Biology | 6. 最初と最後の頁 1390 ~ 1403 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09553002.2019.1606957 | 査読の有無 無 |
| 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 Tsunoyama Yuichi, Suzuki Kazuyo, Masugi-Tokita Miwako, Nakajima Hiroo, Manabe Yuichiro, Wada Takahiro, Bando Masako | 4. 巻 95 |
| 2. 論文標題 Verification of a dose rate-responsive dynamic equilibrium model on radiation-induced mutation frequencies in mice | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 International Journal of Radiation Biology | 6. 最初と最後の頁 1414 ~ 1420 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09553002.2019.1569772 | 査読の有無 無 |
| 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 Suzuki Kazuyo, Toki Hiroshi, Wada Takahiro | 4. 巻 145 |
| 2. 論文標題 Incidence of Thyroid Cancer Among Children and Young Adults in Fukushima, Japan | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 JAMA Otolaryngology?Head & Neck Surgery | 6. 最初と最後の頁 768 ~ 768 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1001/jamaoto.2019.1099 | 査読の有無 無 |
| 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 Liu Yanyan, Harashima Shin Ichi, Wang Yu, Suzuki Kazuyo, Tokumoto Shinsuke, Usui Ryota, Tatsuoka Hisato, Tanaka Daisuke, Yabe Daisuke, Harada Norio, Hayashi Yoshitaka, Inagaki Nobuya | 4. 巻 33 |
| 2. 論文標題 Sphingosine kinase 1?interacting protein is a dual regulator of insulin and incretin secretion | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 The FASEB Journal | 6. 最初と最後の頁 6239 ~ 6253 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.201801783RR | 査読の有無 無 |
| 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 鈴木 和代、福島 光夫、稲垣 暢也 | 4. 巻 63 |
| 2. 論文標題 今月の特集1 発症を予測する臨床検査-先制医療で5疾病に立ち向かう! 糖尿病の先制医療 | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 臨床検査 | 6. 最初と最後の頁 32~36 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11477/mf.1542201849 | 査読の有無 無 |
| 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 Suzuki Kazuyo, Fukushima Mitsuo, Inagaki Nobuya | 4. 巻 0 |
| 2. 論文標題 Are there any Sensors in Oral Cavity for Gut Hormone Release? | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Current Oral Health Reports | 6. 最初と最後の頁 in press |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s40496-019-0218-2 | 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 Suzuki Kazuyo, Hiroshi Toki, Takahiro Wada | 4. 巻 0 |
| 2. 論文標題 Re: Incidence of Thyroid Cancer Among Children and Young Adults in Fukushima, Ja-pan, Screened With 2 Rounds of Ultrasonography Within 5 Years of the 2011 Fukushima Daiichi Nuclear Power Station Accident | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 JAMA Otolaryngology - Head & Neck Surgery | 6. 最初と最後の頁 in press |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 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7件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

| |
|---|
| 1. 発表者名 八上 全弘, 松島 晶, 今井 誠一郎, 鈴木 和代, 杉山 治, 井上 真由美, 磯田 裕義 |
| 2. 発表標題 汎用Officeソフトウェアのマクロ機能による任意型検診のデータ時系列構造化と業務効率化・高度化 |
| 3. 学会等名 第55回日本医学放射線学会秋季臨床大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 池口 絵理, 原田 範雄, 金丸 良徳, 三小田 亜希子, 山根 俊介, 岩崎 可南子, 今城 正道, 村田 由貴, 鈴木 和代, 城尾 恵里奈, 稲垣 暢也 |
| 2. 発表標題 転写因子Pdx1は小腸内のGIP遺伝子を制御して加齢に伴うGIP分泌亢進に關与する |
| 3. 学会等名 日本内分泌学会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 劉 彦言, 原島 伸一, 王 宇, 鈴木 和代, 徳本 信介, 臼井 亮太, 龍岡 久登, 田中 大祐, 矢部 大介, 原田 範雄, 林 良敬, 稲垣 暢也 |
| 2. 発表標題 Sphingosine kinase 1-interacting proteinはインスリン及びインクレチン分泌の双方の制御因子である |
| 3. 学会等名 日本臨床分子医学会学術総会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 kazuyo suzuki, keiko nishikawa, manabu tsujimura, kazuko uno, masako bando, yukiko kinoshita, et.al,. |
| 2. 発表標題 Qualitative interview of women in research and development to clarify universal factors which induce “ inclusive innovation ” |
| 3. 学会等名 IAU Symposium 358 ASTRONOMY FOR EQUITY, DIVERSITY AND INCLUSION |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 kazuyo suzuki, yuki murata, norio harada, nobuya inagaki |
| 2. 発表標題 The short-term high-fat diet induces fat-responsive gastric inhibitory polypeptide hypersecretion in the murine enteroendocrine K-cells. |
| 3. 学会等名 55th EASD Annual Meeting |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 鈴木和代 原田範雄 山根俊介 渋谷公尊 原田貴成 城尾恵里奈 藤原雄太 村田由貴 三小田亜希子 金丸良徳 浜崎暁洋 稲垣暢也 |
| 2. 発表標題 短期間高脂肪食負荷後における腸管内分泌K細胞からのGastric inhibitory polypeptide (GIP)産生亢進機序についての検討 |
| 3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Kazuyo Suzuki; Masako Bando; Kazuko Uno; Yukiko Kinoshita; Maki Koyama; and Yasuko Komoto |
| 2. 発表標題 Diversity pioneering the future of radiation biology education in Japan: forum report of dialogues between citizens and scientists |
| 3. 学会等名 The 64th Annual Meeting of the Radiation Research Society (国際学会) |
| 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 |
|---------------------------|-----------------------|----|
| | | |

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