

令和 4 年 5 月 31 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03706

研究課題名（和文）ヒト膵 細胞増量治療開発に向けた肝臓 膵 細胞間神経ネットワークの分子機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of molecular mechanisms of the liver-beta cell inter-organ neuronal network

研究代表者

今井 淳太（Imai, Junta）

東北大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：80431500

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,500,000円

研究成果の概要（和文）：肝臓-膵 細胞間神経ネットワークに關与する迷走神経因子を作用させた単離膵島において、FoxM1の発現上昇に關与する可能性のある複数の転写因子の発現が上昇していることが明らかになった。そこで、これら転写因子のうち、マウスやヒトの膵 細胞で発現が高い転写因子についてfloxマウスを作製し、このマウスを用いて誘導性膵 細胞特異的ノックアウトマウスの作製に成功した。さらに、肥満時に肝臓ERK経路活性化が起こるメカニズムの解析については、腸管に炎症を惹起することで肝臓ERK経路が活性化して膵 細胞が増殖するモデルの作成に成功し、腸管炎症と肝臓-膵 細胞間神経ネットワークの關係が明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は研究代表者が独自に明らかにした肝臓 膵 細胞間神経ネットワークに着想を得て、この神経ネットワークの未解明の分子機構を明らかにしたものである。本研究結果によってその制御機構がさらに明らかになったことにより、インスリン抵抗性状態における代償性膵 細胞増殖という糖代謝恒常性維持においてきわめて重要なメカニズムの理解が進むことが期待される。また、膵 細胞を増量する治療法は存在せず、これは糖尿病根治療法開発が進まない大きな要因となっている。本研究結果によって本来生物の体の中にあるシステムを活用した世界で初めての膵 細胞増量薬の開発につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Previously, we discovered that, during obesity development, pancreatic vagal nerve signals, elicited by liver- cell inter-organ neuronal network, play critical roles in triggering compensatory cell proliferation through the FoxM1-dependent mechanism. In this project, we explored the molecular mechanism(s) by which vagal signals activate the cell FoxM1 pathway. By analyzing mouse isolated islets treated by vagal factors, we identified several transcription factors which is potentially involved in activation of the FoxM1 pathway in cells. In addition, among these transcription factors, we developed cell-specific knock-out mice of transcription factor which is abundantly expressed in cells both in humans and mice. In addition, we developed mouse model in which inflammation is induced in gastrointestinal tracts, and clarified that the liver- cell inter-organ neuronal network is activated in these model mice.

研究分野：代謝学

キーワード：膵 細胞 迷走神経 インスリン 肥満症

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

肥満などのインスリン抵抗性状態においては代償的に膵β細胞数が増加しインスリン分泌を亢進することによって血糖値の上昇を抑制する機構が働く。この代償性反応は、血糖値の上昇を防ぐ「体に備わった抗糖尿病機構」と考えられる。この機構を解明することは、糖代謝の恒常性維持機構の解明とともに、糖代謝異常の病態を理解する上で重要であり、さらにこの機構を利用して膵β細胞を増量することにより、糖尿病の様々な病態の根治療法開発が可能となることが期待される。一方、高インスリン血症はさらなる肥満を助長することから、代償性膵β細胞増加の機構を明らかにすることは肥満の病態形成メカニズムの理解にもつながると考えられる。しかしこれまで、なにがきっかけとなってこのような膵β細胞の代償性反応が起こるのかについては不明な点が多かった。研究代表者は、この代償反応が起こる仕組みとして、神経シグナルや液性因子を介した臓器間ネットワークによる膵β細胞制御機構が重要な役割を担っていることを報告してきている (*Science* 2008, *Diabetes* 2011)。これらのうち、神経シグナルを介した臓器間ネットワークにおいては、肝臓が ERK 経路の活性化を介して肥満の際の全身のインスリン需要の増加を感知することが重要であり、さらに肝臓で感知されたシグナルが内臓神経求心路→中枢神経→迷走神経遠心路→膵β細胞という肝臓—膵β細胞間神経ネットワークを介して膵β細胞の代償性反応を起こすことを世界で初めて示した (*Science* 2008)。さらにこのメカニズムの検討を進め、細胞周期回転を促進する転写因子 FoxM1 の誘導性膵β細胞特異的欠損マウスなどを用い、この神経ネットワークにおいて迷走神経由来因子である acetylcholine (ACh) と pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP)、vasoactive intestinal peptide (VIP) などの複数の迷走神経因子が膵ランゲルハンス島 (膵島) 局所で同時に高濃度に作用し、膵β細胞内で FoxM1 経路を活性化させることにより、膵β細胞増殖を選択的に惹起するメカニズムを解明した (*Nature Communications* 2017)。本研究課題ではこれらの独自の成果に基づき、肝臓—膵β細胞間神経ネットワークにおける重要な課題を解明することを目的とした。

### 2. 研究の目的

本研究課題では肝臓—膵β細胞間神経ネットワークにおいて (1) 複数の迷走神経因子が協調して膵β細胞 FoxM1 経路を活性化する細胞内メカニズム (2) 肥満時に肝臓 ERK 経路活性化が起こるメカニズム、の解明を目指した。

#### (1) 複数の迷走神経因子が協調して膵β細胞 FoxM1 経路を活性化する細胞内メカニズム

この神経ネットワークにおいて、複数の迷走神経因子刺激が膵β細胞内 FoxM1 経路を活性化する分子機序はまだ明らかになっていない。またこのメカニズムでは複数の神経因子が膵β細胞増殖を促進する。本課題では複数の迷走神経因子刺激が膵β細胞 FoxM1 経路を活性化する細胞内分子機序を明らかにすることを目的とした。

#### (2) 肥満時に肝臓 ERK 経路活性化が起こるメカニズム

この神経ネットワークにおいて肥満の際に肝臓 ERK 経路が活性化するメカニズムは明らかでない。研究代表者の検討では1週間という短期の高脂肪食負荷で、明らかな肥満を呈する前のマウスにおいても肝臓 ERK 経路が活性化し、それに伴って膵β細胞での FoxM1 経路が活性化することを見出した (*Nature Communications* 2017)。また、解剖学的に肝臓が腸管からの血流を最初

に受ける臓器であることから、研究代表者は「高脂肪食そのものの腸管に与える影響」が肝臓 ERK 経路活性化に関与している可能性を想起した。高脂肪食によって腸管に炎症が惹起されること、また腸管炎症の惹起にはマクロファージ遊走因子である CCL2 の発現上昇が中心的な役割を担っており、それにより血中の LPS や種々の炎症性サイトカインが増加することが報告された。この変化は高脂肪食負荷早期で起こっており、研究代表者が明らかにした高脂肪食負荷の肝臓 ERK 活性化と時相が近く、また、ERK 経路は LPS や炎症性サイトカインによって活性化することが知られている。そこで高脂肪食による腸管炎症の肝臓 ERK 経路活性化への関与について検討することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 複数の迷走神経因子が協調して膵β細胞 FoxM1 経路を活性化する細胞内メカニズム

膵β細胞において Ach は Gq 蛋白共役型受容体であるムスカリン 3 受容体を介して、また PACAP、VIP はいずれも Gs 蛋白共役型受容体である PAC1 受容体、VPAC2 受容体を介してインスリン分泌を促進することが知られている。すなわち、この神経ネットワークにおいてはこれらの迷走神経因子が協調して作用することによって Gs シグナルと Gq シグナルを同時に活性化することが膵β細胞増殖につながっていると考えられ、これらのシグナルが細胞内でどのように協調して FoxM1 経路活性化につながるのかを検討した。まず、Ach、PACAP、VIP を単独で作用させた単離膵島とこれらを組み合わせて作用させた膵島においてどのような細胞内経路が変化しているか RNA-seq などを用いて比較検討した。Gs、Gq シグナルの下流にはカルシウムが共通して存在するが、予備的検討にて、これらの迷走神経因子を作用させた膵島において、細胞内カルシウム濃度増加によって活性化する転写因子が増加している結果を得た。さらにこの転写因子の下流には FoxM1 が存在することから有望な細胞内経路の候補と考えられた。そこで、この経路に着目しつつ検討を進めた。

#### (2) 肥満時に肝臓 ERK 経路活性化が起こるメカニズム

腸管特異的 CCL2 ノックアウトマウスでは高脂肪食による腸管炎症が著明に抑制されることから、このマウスを用いて肝臓 ERK 活性化における腸管炎症の関与を検討した。高脂肪食を負荷して肥満としたノックアウトマウスにおいて、肝臓 ERK 経路の活性化が阻害されるかどうか、膵β細胞増殖が抑制されるかどうかを検討した。ノックアウトマウスにおいて神経ネットワークが阻害された場合には、それにより高脂肪食負荷早期からインスリン分泌の低下や耐糖能悪化を来すかどうかを糖負荷試験などにより検討し、また、その際の体重変化を観察し、全身の糖代謝や肥満形成におけるこのメカニズムの関与を検討した。

### 4. 研究成果

#### (1) 複数の迷走神経因子が協調して膵β細胞 FoxM1 経路を活性化する細胞内メカニズム

この神経ネットワークにおいては複数の迷走神経因子が協調して作用することによって膵β細胞 FoxM1 経路活性化を介して増殖につながることが明らかになっている。これらのシグナルが細胞内でどのように協調して FoxM1 経路活性化につながるのかを明らかにするため、迷走神経因子を作用させた単離膵島においてどのような細胞内経路が変化しているかを解析した。その結果、FoxM1 の発現上昇に関与する可能性のある複数の転写因子の発現が上昇していることが明らかになった。さらにこれらの転写因子の特異的阻害剤の *in vivo* での投与によって肥満時の膵β

細胞増殖や膵β細胞FoxM1経路の活性化が抑制された。そこで、これら転写因子のうち、マウスやヒトの膵β細胞で発現が高い転写因子についてfloxedマウスを作製、樹立した。さらにこのfloxedマウスとRIP-CreERマウスを交配し誘導性膵β細胞特異的ノックアウトマウスの作製を進めている。

## (2) 肥満時に肝臓 ERK 経路活性化が起こるメカニズム

腸管特異的CCL2ノックアウトマウスでは肝臓ERK経路の活性化や膵β細胞増殖の抑制は認められなかった。そこで、腸管炎症と肝臓—膵β細胞間神経ネットワークの直接的な関与を検討するため、薬剤を用いて腸管に強い炎症を誘導するマウスを作製し、そのマウスにおける肝臓ERK経路や膵β細胞増殖の変化を検討した。その結果、腸管に炎症を惹起することで肝臓ERK経路が活性化して膵β細胞が増殖するモデルの作成に成功した。現在、このモデルマウスと高脂肪食負荷によって肥満を誘導したマウスについて、肝臓ERK経路活性化や膵β細胞増殖に関する表現型を比較しつつ解析を進めている。さらに、腸管炎症の阻害によって肝臓や膵β細胞における表現型が抑制される結果が得られ、腸管炎症と肝臓—膵β細胞間神経ネットワークとの関係が明らかになりつつある。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 4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 今井淳太	4. 巻 52
2. 論文標題 迷走神経シグナルによる組織の適応修復に関わる細胞増殖制御機構	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 細胞	6. 最初と最後の頁 9-12
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 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 Imai Junta	4. 巻 11
2. 論文標題 Cell senescence in the pathogenesis of type 2 diabetes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 284 ~ 286
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jdi.13162	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 今井淳太	4. 巻 50
2. 論文標題 肝臓 細胞連関による 細胞増殖制御	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 糖尿病・内分泌代謝科	6. 最初と最後の頁 93 ~ 97
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 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 Imai Junta	4. 巻 254
2. 論文標題 Regulation of Adaptive Cell Proliferation by Vagal Nerve Signals for Maintenance of Whole-Body Homeostasis: Potential Therapeutic Target for Insulin-Deficient Diabetes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Tohoku Journal of Experimental Medicine	6. 最初と最後の頁 245 ~ 252
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1620/tjem.254.245	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 Imai Junta、Katagiri Hideki	4. 巻 34
2. 論文標題 Regulation of systemic metabolism by the autonomic nervous system consisting of afferent and efferent innervation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 67～79
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxab023	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 今井 淳太、片桐 秀樹	4. 巻 73
2. 論文標題 特集 脳腸相関-脳-身体 の双方向性制御 自律神経系を介した臓器間ネットワークによる代謝調節	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BRAIN and NERVE	6. 最初と最後の頁 851～856
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11477/mf.1416201851	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 今井淳太	4. 巻 133
2. 論文標題 自律神経シグナルによる個体恒常性維持機構の解明	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 東北医学雑誌	6. 最初と最後の頁 46～49
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 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 今井淳太	4. 巻 76
2. 論文標題 迷走神経シグナルを介した組織の適応・修復にかかわる細胞増殖	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 臨床免疫・アレルギー科	6. 最初と最後の頁 210～215
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 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 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 9件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 今井淳太
2. 発表標題 迷走神経シグナルによる膵 細胞増殖誘導メカニズム
3. 学会等名 第55回 糖尿病学の進歩（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Junta Imai, Hideki Katagiri
2. 発表標題 Vagal nerve signal-mediated regulation of pancreatic cells
3. 学会等名 第63回 日本糖尿病学会総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今井淳太
2. 発表標題 迷走神経シグナルによる膵 細胞制御メカニズム
3. 学会等名 第94回 日本糖尿病学会中部地方会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今井淳太
2. 発表標題 恒常性維持のための 迷走神経シグナルを介した細胞増殖制御機構
3. 学会等名 第92回日本内分泌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Junta Imai, Hideki Katagiri
2. 発表標題 Regulation of cell proliferation by vagal nerve signals
3. 学会等名 第62回 日本糖尿病学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Junta Imai, Hideki Katagiri
2. 発表標題 Vagal nerve signal-regulated cell proliferation for maintaining whole body homeostasis
3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今井淳太
2. 発表標題 迷走神経シグナルによる糖代謝制御
3. 学会等名 第40回 日本認知症学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今井淳太
2. 発表標題 インスリン分泌・製剤・デバイス・細胞～今後100年を見据えて～
3. 学会等名 日本糖尿病学会 インスリン発見100周年記念シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 今井淳太
2. 発表標題 迷走神経シグナルによる膵 細胞量調節機構
3. 学会等名 第64回 日本糖尿病学会年次学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

東北大学大学院医学系研究科 糖尿病代謝内科学分野 <a href="http://www.diabetes.med.tohoku.ac.jp/">http://www.diabetes.med.tohoku.ac.jp/</a> 東北大学大学院医学系研究科 糖尿病代謝内科学分野 <a href="http://www.diabetes.med.tohoku.ac.jp/">http://www.diabetes.med.tohoku.ac.jp/</a>
--

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