

令和 4 年 5 月 22 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09017

研究課題名(和文) 腸管上皮が高齢者耐糖能障害に与える影響の解明

研究課題名(英文) The elucidation of the mechanism by which intestinal epithelial cells affect impaired glucose tolerance during aging

研究代表者

五十嵐 正樹 (Igarashi, Masaki)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90508095

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：絶食によるSIRT1活性上昇が、腸管内分泌前駆細胞における、カテニンの脱アセチル化と細胞周期低下を通じてNeurogenin3発現および腸管内分泌細胞数を制御することがわかった。これらにより絶食による新規の腸管内分泌分化制御機構が明らかとなった。一方で、腸管における細胞老化は、グルコースおよび胆汁酸吸収を制御すること、そしてそれを通じて肝糖新生を制御することを示唆するデータが得られた。高齢者耐糖能の制御メカニズムの一端が明らかになったといえる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腸管は栄養素吸収やホルモン分泌を通じ、代謝に重要な役割を果たす臓器であるが、これまで腸管を軸とした加齢現象の制御は報告されていない。本研究では、腸管ホルモンや腸管上皮の細胞老化の高齢者耐糖能障害への影響を明らかにすることにより、加齢に伴う耐糖能障害を制御する方法開発の基盤を構築することを目的とした。加齢による腸管内分泌細胞や腸管上皮の変化についての新しい知見を得ることができただけでなく、腸管を起点とする加齢に関わる臓器間ネットワークの存在が示唆され、老化研究に新しい展開をもたらすことが期待される。

研究成果の概要(英文)：We clarified that the increase of SIRT1 activity by fasting regulates Neurogenin3 expression and the number of intestinal endocrine cells through the deacetylation of -catenin and the cell cycle arrest in intestinal endocrine progenitor cells. These revealed a novel mechanism for controlling intestinal endocrine differentiation by fasting. On the other hand, our data suggest that cellular senescence in the intestine regulates glucose and bile acid absorption and hepatic gluconeogenesis. The mechanism of glucose intolerance in the elderly has been partly clarified.

研究分野：老化

キーワード：SIRT1 細胞老化

1. 研究開始当初の背景

腸管は、全身の代謝、免疫などを制御する臓器であり、腸内環境や腸管に発現する遺伝子制御を通じた疾患制御が可能であることが明らかになっている。しかし、加齢における腸管ホメオスタシスの変化と糖尿病などの加齢性疾患への寄与は、十分に解明されていない。

申請者は、抗加齢効果をもつカロリー制限下での腸管の幹細胞自己複製制御機構 (NAD⁺-SIRT1-mTORC1 経路) を明らかにした (Igarashi M et.al., Cell. 2016)。さらに、加齢による腸管の SIRT1 活性低下に伴う幹細胞の自己複製能力が、NAD⁺中間代謝産物ニコチンアミドリボシド (NR) 投与により回復することを見出した (Igarashi M et.al., Aging Cell. 2019)。そこで、SIRT1 が腸管上皮の加齢に重要な影響を及ぼすと考え、腸管上皮特異的 SIRT1 ノックアウト (Villin cre floxed SIRT1 KO (ViIKO)) マウスに高脂肪食を負荷して代謝表現型を解析した。

ViIKO マウスでは野生型のマウスと比べて、体重の減少、インスリン抵抗性の改善を認めるが、血中 GLP-1 濃度、腸管内分泌細胞数および GLP-1 陽性細胞 (L 細胞) 数が 2 倍に増加している。インスリン感受性は GLP-1 受容体アンタゴニスト exendin9-39 投与で消失する。

加齢に伴う SIRT1 低下は GLP-1 陽性細胞の分化を促進すると考えられる。しかし、一般に加齢に伴い耐糖能は増悪するので、この現象では加齢に伴う耐糖能障害を説明不可能である。

一方、老齢マウスの幹細胞では、Cellular senescence (細胞老化) に重要な役割をもつ p21、Rb の発現レベルの上昇、CDK2、CDK4、CyclinD1 の低下を認めることから、Cellular senescence もまた腸管上皮の加齢性変化を特徴づけると考えた。腸管上皮における Cellular senescence の役割を解明するために、腸管上皮特異的 p53、Rb ダブルノックアウト (p53RbDKO) マウスを作成し、糖代謝に関する表現型を観察した。

通常食では、p53RbDKO マウスにおいて空腹時血糖の有意な低下を認めた。一方、ブドウ糖負荷試験での負荷後血糖や随時血糖、体重には変化を認めない。

高脂肪食負荷では、p53RbDKO マウスにおいて空腹時血糖の低下と体重の減少を認める。

以上から、腸管の Cellular senescence は、空腹時血糖上昇と肥満促進に働くと考えられる。

高齢者糖尿病の病態を腸管上皮との関わりから理解するには、SIRT1 だけではなく Cellular senescence にも着目して、糖代謝に影響を及ぼし得る内分泌機能、吸収機能、神経経路や腸内細菌の変化と、これらの相互作用を包括的に解析し理解する必要がある。そこで高齢者糖尿病の病態を理解すべく本研究を計画し、高齢者糖尿病制御法開発のための基盤を構築する。

2. 研究の目的

腸管は、全身の代謝に関わる重要な臓器の一つであるが、加齢における腸管ホメオスタシス破綻とその加齢性疾患への関与は十分に解明されていない。そこで、申請者はこれまでの研究から SIRT1 と細胞老化を手掛かりに、腸管上皮の加齢性変化が生活習慣病など加齢性疾患に与える影響を解明する。

3. 研究の方法

腸管上皮特異的 SIRT1KO マウス (Villin cre floxed SIRT1 (ViIKO))、内分泌前駆細胞特異的 SIRT1 KO マウス (Neurogenin3 cre floxed SIRT1 (NgnKO))、腸管上皮特異的 p53 KO マウス (Villin cre ER floxed p53)、腸管上皮特異的 Rb KO マウス (Villin cre ER floxed Rb)、腸管上皮特異的 Mdm2KO マウス (Villin cre ER floxed Mdm2) の解析を行う。これらのマウス由来腸陰窩からのオルガノイド培養を行い、メカニズム解明に用いる。また、NgnKO マウスを tdTomato レポーター マウスと交配させて、tdTomato によって内分泌細胞を単離して解析する。

4. 研究成果

高脂肪を負荷した ViIKO マウス (幹細胞や内分泌細胞を含めたすべての腸管上皮細胞で SIRT1 を欠失させたマウス) では野生型のマウスと比べて、体重の減少、インスリン抵抗性の改善を認めるが、血中 GLP-1、GIP 濃度、腸管内分泌細胞数 (chromogranin A 陽性細胞) および GLP-1 陽性細胞 (L 細胞) 数が 2 倍程度に増加していた。そのインスリン抵抗性の改善は GLP-1 受容体アンタゴニスト exendin9-39 投与で消失する。高脂肪食を負荷した Ngn3KO マウスでも同様に、腸管内分泌細胞数および L 細胞数の増加を認めた。高脂肪を負荷した Ngn3KO マウスから腸管内分泌細胞を単離して、mRNA の解析を行うと、とくに腸管内分泌細胞分化を方向づける転写因子である Neurogenin 3 が有意に上昇した。腸管内分泌前駆細胞を含む前駆細胞の増殖の状態を調べるため、Ki67 の免疫染色を行うと、Ki67 陽性細胞数は ViIKO マウスで 2 倍以上に増加した。高脂肪を負荷した ViIKO マウス由来腸陰窩でのウエスタンブロットでは、細胞周期に関する CyclinB1、

CyclinE、CyclinD の発現上昇を認め、腸管内分泌前駆細胞の分裂促進が Neurogenin3 発現上昇、内分泌細胞の増加を来すものと考えられた。また、VilK0 マウス由来腸陰窩では、カテニン活性の上昇を認め、SIRT1 によるカテニン脱アセチル化がカテニン活性を制御するものと考えられた。VilK0 マウス由来腸陰窩から作成した腸管上皮オルガノイドの免疫染色では、In vivo の免疫染色同様 VilK0 マウスでの chromograninA 陽性細胞数が増加したが、細胞周期の進行を阻害する BMS-265246 およびカテニン阻害剤 JW55 存在下ではその増加がキャンセルされた。このことから、腸管内分泌前駆細胞におけるカテニン活性上昇および細胞周期の進行が Neurogenin3 発現上昇、内分泌細胞の増加を来すことが確かめられた。生理的意義として、絶食による内分泌細胞数低下は絶食における適応とも考えられるが、SIRT1 活性の変化がその内分泌細胞数の変化を媒介することを明らかにした。

一方で、腸管上皮における細胞老化の役割を解明するために新たに作成した腸管上皮特異的 p53 あるいは Rb ノックアウトマウス (Villin cre ER floxed p53 or Rb) では、空腹時血糖の低下と、OGTT およびアラニン負荷テストでの AUC 低下を認めた。細胞老化を誘導したマウス (Villin cre ER floxed Mdm2 マウス) では、OGTT で逆に耐糖能が増悪する。腸管上皮の細胞老化がグルコース吸収に関わることがもっとも大きな要因であることがわかった。また、腸管の細胞老化は胆汁酸の吸収に関わっており、p53K0 マウス、RbK0 マウスでは胆汁酸再吸収の低下とそれに伴う FGF19 の低下が肝糖新生を制御する可能性が示唆された。

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 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Igarashi M, Miura M, Williams E, Jaksch F, Kadowaki T, Yamauchi T, Guarente L.	4. 巻 18
2. 論文標題 NAD+ supplementation rejuvenates aged gut adult stem cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Aging Cell	6. 最初と最後の頁 e12935
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/accel.12935.	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 該当する

〔学会発表〕 計18件（うち招待講演 3件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 五十嵐正樹，三浦 雅臣，中川佳子、山内敏正
2. 発表標題 腸管内分泌細胞の老化と長寿遺伝子SIRT1による制御機構の解明
3. 学会等名 第62回日本老年医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 五十嵐正樹，三浦 雅臣，中川佳子、山内敏正
2. 発表標題 腸管内分泌細胞の老化と長寿遺伝子SIRT1による制御機構の解明
3. 学会等名 第20回日本抗加齢医学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 三浦 雅臣、五十嵐 正樹、中川 佳子、門脇 孝、山内 敏正
2. 発表標題 腸管上皮におけるSIRT1制御のメカニズム解析
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 三浦 雅臣、五十嵐 正樹、中川 佳子、門脇 孝、山内 敏正
2. 発表標題 腸管におけるGLP-1分泌制御の解明
3. 学会等名 第93回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 三浦 雅臣、五十嵐 正樹、中川 佳子、門脇 孝、山内 敏正
2. 発表標題 腸管内分泌細胞におけるSIRT1の役割の解明
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 JASSOシナジーアワード受賞講演（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masaki Igarashi, Masaomi Miura, Yoshiko Nakagawa, Takashi Kadowaki, Toshimasa Yamauchi
2. 発表標題 The regulation of the enteroendocrine cells by aging related gene SIRT1 and its effect on the metabolic diseases.
3. 学会等名 International Diabetes Federation 2019 (Busan, Korea, 2019.12) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 五十嵐 正樹
2. 発表標題 ニコチンアミドリボシド（NR）によるNAD ⁺ /SIRT1/mTORC1 経路の活性化とその老化による幹細胞機能低下への応用
3. 学会等名 第19回日本抗加齢医学会総会（2019年6月 横浜）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 五十嵐 正樹, 三浦 雅臣, 門脇 孝, 山内敏正
2. 発表標題 長寿遺伝子SIRT1によるインクレチン制御とその糖代謝への影響
3. 学会等名 第92回日本内分泌学会学術総会 (2019年5月 仙台)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 五十嵐 正樹, 三浦 雅臣, 門脇 孝, 山内敏正
2. 発表標題 腸管上皮に発現する長寿遺伝子SIRT1のインスリン抵抗性への関わりの解明
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会 (2019年5月 仙台)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 五十嵐正樹, 三浦 雅臣, 山内敏正
2. 発表標題 ニコチンアミドリボシド (NR) によるNAD+/SIRT1/mTORC1 経路の活性化とその老化による幹細胞機能低下への応用
3. 学会等名 第61回日本老年医学会学術集会 (2019年6月 仙台)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 五十嵐正樹
2. 発表標題 腸管内分泌細胞老化に着目したGLP-1制御機構の解明とその糖尿病治療への応用
3. 学会等名 第7回日本糖尿病療養指導学術集会 (2019年7月 福岡)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三浦 雅臣, 中川 佳子, 五十嵐 正樹, 山内 敏正, 門脇 孝
2. 発表標題 腸管上皮におけるSIRT1活性のメカニズムの解析、その肥満抑制への応用
3. 学会等名 第34回日本糖尿病・肥満動物学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 五十嵐正樹
2. 発表標題 NAD+/サーチュインの幹細胞老化における意義
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

1. 発表者名 五十嵐正樹
2. 発表標題 「NAD+ と幹細胞老化 ～基礎研究とそのヒトへの応用～」
3. 学会等名 第21回日本抗加齢医学会総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 三浦 雅臣、五十嵐 正樹、中川 佳子、門脇 孝、山内 敏正
2. 発表標題 腸管上皮におけるSIRT1の機能解析
3. 学会等名 第94回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 三浦 雅臣、五十嵐 正樹、中川 佳子、門脇 孝、山内 敏正
2. 発表標題 長寿遺伝子SIRT1の腸管内分泌細胞における役割の解明
3. 学会等名 腸管上皮におけるSIRT1の機能解析」
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 三浦 雅臣、五十嵐 正樹、中川 佳子、山内 敏正
2. 発表標題 NAD依存性脱アセチル化酵素SIRT1の腸管内分泌細胞における制御機構の解明
3. 学会等名 第42回日本肥満学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 五十嵐正樹
2. 発表標題 長寿遺伝子SIRT1による腸管内分泌細胞分化制御機構の解明
3. 学会等名 第22回日本抗加齢医学会総会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 五十嵐正樹	4. 発行年 2020年
2. 出版社 科学評論社	5. 総ページ数 8
3. 書名 糖尿病・内分泌代謝科 第50巻第3号 「超・超高齢社会における健康長寿実現に向けて」	

1. 著者名 五十嵐正樹	4. 発行年 2020年
2. 出版社 診断と治療社	5. 総ページ数 8
3. 書名 糖尿病学2020	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 NMN等含有組成物	発明者 五十嵐正樹	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-47706	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
研究協力者	三浦 雅臣 (Miura Masaomi)	東京大学医学部附属病院・糖尿病・代謝内科・医員 (12601)	
研究協力者	磯谷 亮輔 (Isotani Ryosuke)	東京大学医学部附属病院・糖尿病・代謝内科・大学院生 (12601)	

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