

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17525

研究課題名（和文）迷走神経シグナルによる臓器・組織量調節機構の解明とその治療応用に向けた解析

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanisms of vagal signal-mediated organ and tissue mass regulation and its therapeutic application

研究代表者

井泉 知仁（IZUMI, Tomohito）

東北大学・医学系研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：80747064

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）：本研究では迷走神経シグナルによる細胞増殖機構の解明とその治療応用を見据えた基礎実験を行った。まずマウス単離膵島に迷走神経因子を負荷した際の細胞内シグナルを遺伝子発現の網羅的解析にて探索し、候補となる経路を同定した。また生体マウスにおいて、光遺伝学的手法を用いて迷走神経を継続的に活性化したところ、膵細胞量を増加させることに成功した。またマウス単離膵島に対して、迷走神経因子と同様にG蛋白共役型受容体のリガンドとなる複数の因子を負荷する実験を行い、膵島細胞増殖を誘導するいくつかの因子の組み合わせを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、研究代表者が所属するグループが見出した神経シグナルを介した細胞増殖誘導機構を応用することで、生体内あるいは生体外で標的となる細胞量を増加させることができることを示した。これらの成果は、膵細胞が減少することにより発症する糖尿病をはじめとした、種々の疾患に対する再生治療の開発につながることで期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we conducted basic experiments to elucidate the mechanisms of cell proliferation by vagal signals and its therapeutic application. First, by comprehensive analysis of gene expression in mouse isolated islets treated with vagus-derived factors, we identified some candidate pathways. Next, by employing the technique of optogenetics, we found that continuous activation of vagal nerves in living mice successfully increased pancreatic cell mass. We also performed experiments in which multiple factors that act as ligands for G protein-coupled receptors, similar to vagal factors, were loaded on isolated mouse islets, and found that some combinations of several factors could induce pancreatic islet cell proliferation. The above results are expected to lead to the development of regenerative treatment for diseases such as diabetes.

研究分野：代謝学

キーワード：膵細胞 再生医療 自律神経 臓器間ネットワーク

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

生体内の需要に応じた臓器、組織の量を維持することは、恒常性を保つために極めて重要であり、再生治療が強く求められている所以である。生体の内在性制御機構を標的とし、対象となる臓器、細胞を生体内の本来の場所で機能を維持したまま増殖させることができれば、有望な再生治療の方策となりうる。

糖尿病は膵β細胞量の減少が発症の重要な基盤病態となっており、膵β細胞量を回復させることができれば糖尿病の根治につながる可能性がある。申請者の所属する研究グループでは、肥満に伴うインスリン抵抗性増大時に膵β細胞の代償性増殖がみられることに着目し検討を行った結果、肝臓 - 中枢神経 - 膵β細胞の臓器間神経ネットワークを発見した(Imai et al. *Science* 2008)。これは、肥満に伴う肝臓の extracellular-signal regulated kinase(ERK)経路の活性化が発端となり、肝臓 - 内臓神経求心路 - 中枢神経—迷走神経遠心路 - 膵β細胞という神経経路により、膵臓内で膵β細胞特異的な増殖が誘導されるという機構である。さらに申請者らの研究により、迷走神経由来因子である acetylcholine(Ach)、pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide(PACAP)、vasoactive intestinal peptide(VIP)が組み合わされて膵β細胞に直接作用し、膵β細胞内の Forkhead box M1(FoxM1)経路を活性化させて増殖を引き起こすという分子メカニズムを明らかにした(Yamamoto, Imai, Izumi et al. *Nature Communications* 2017)。膵β細胞における迷走神経由来因子の受容体は Gq 蛋白、Gs 蛋白と共役していることが知られており、これらの複合的なシグナルが膵β細胞を効率よく増殖させることが示唆された。

また、肝臓を部分的に切除すると速やかに肝細胞が旺盛に増殖し、短期間のうちに再生することが古くから知られている。過去の研究により、この肝臓の再生過程にも迷走神経が関与していることが示されている。申請者らはこのメカニズムに着目して検討を進め、肝臓に分布する迷走神経シグナルが肝臓内のマクロファージの機能変容を介して、肝臓切除後の早期の肝細胞増殖を誘導することを明らかにした(Izumi et al. *Nature Communications* 2018)。

これらの研究成果は、生体に備わっている臓器、組織量の維持機構に迷走神経シグナルが深く関わっていることを示すとともに、再生治療の魅力的なターゲットであることを想起させるものである。

## 2. 研究の目的

本研究では、申請者らが見出した迷走神経シグナルによる膵β細胞、肝細胞増殖機構をターゲットとし、Gq 蛋白シグナルと Gs 蛋白シグナルの複合的作用から膵β細胞増殖に至る分子メカニズムのさらなる解明と、生体外での膵β細胞増殖効果、生体内での迷走神経活性化による膵β細胞、肝細胞増殖誘導の検討を目的とした。

## 3. 研究の方法

具体的な研究内容と方法は以下の通りである。

(1)迷走神経シグナルによる膵β細胞増殖の詳細な分子メカニズムの解明：マウスから単離した膵島に迷走神経由来因子を作用させ、遺伝子発現の変化を網羅的に解析することで細胞内パスウェイの同定、解明を進めた。

(2)迷走神経直接刺激による膵β細胞、肝細胞増殖効果の検討：ラットの頸部迷走神経を専用のデバイスを用いて直接電気刺激することで膵β細胞増殖を誘導できるかを観察した。さらにこれを発展させ、光遺伝学的に生体内で迷走神経を活性化させることのできる遺伝子改変マウスを作成し、同様の検討を行った。

(3) Gq、Gs 蛋白シグナルの複合的作用による効率的な膵β細胞増殖法の開発：膵β細胞における Gq 蛋白、Gs 蛋白と共役する他の受容体の発現を、マウス単離膵島、膵β細胞培養株の遺伝子発現を網羅的に解析することで探索した。それらの中で発現量の多いものを選択し、対応するリガンドを *ex vivo* で作用させることで膵β細胞を増殖させることができるかを検討した。

#### 4. 研究成果

(1) 迷走神経シグナルによる膵β細胞増殖の詳細な分子メカニズムの解明：迷走神経由来因子で処理したマウス単離膵島の遺伝子マイクロアレイ法により、calcineurin/NFAT 経路に関わる *Nfatc1* 遺伝子の発現が有意に増加していることを見出した。今後、この経路に関わる分子のノックアウトマウスを作成するなどして、さらなるメカニズムの解明を進める予定である。

(2) 迷走神経直接刺激による膵β細胞、肝細胞増殖効果の検討：ラットの頸部迷走神経を電氣的に刺激したところ、4-14 日間の介入によって膵インスリン含量の増加を認めた。さらに安定的かつ長期的に迷走神経を活性化できるモデルを目指し、ACh 作動性ニューロン特異的に channelrhodopsin-2 を発現するマウスを作成した。このマウスでは迷走神経の特定の部位に青色光を照射することで、照射依存的に神経を活性化させることができることが確認され、腹腔内の迷走神経を長期間活性化することにより膵β細胞を増殖させることに成功した。今後、さらに膵臓特異的に迷走神経を刺激する方法の開発や、より効率的に膵β細胞増殖を誘導できる条件の探索を続けていく方針である。

(3) Gq、Gs 蛋白シグナルの複合的作用による効率的な膵β細胞増殖法の開発：マウス単離膵島、膵β細胞株である MIN6 細胞の遺伝子発現をマイクロアレイ法で解析したところ、膵β細胞には多くの Gq、Gs 蛋白共役型受容体が発現していることが明らかになった。それらのうちいくつかの受容体に対するリガンドをマウス単離膵島に作用させたところ、迷走神経由来因子と同様に複数のリガンドの組み合わせで膵β細胞増殖を誘導できること、一部の組み合わせでは迷走神経由来因子よりも強く細胞増殖を誘導できることが示唆された。今後さらに高効率なリガンドの組み合わせを見出すべく検討を続け、さらにはヒト膵β細胞への効果も検証する予定である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 0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 Yamamoto Junpei, Endo Akira, Sugawara Hiroto, Izumi Tomohito, Takahashi Kenji, Yamamoto Saori, Akiyama Masatoshi, Adachi Osamu, Kaneko Keizo, Sawada Shojiro, Imai Junta, Saiki Yoshikatsu, Shimokawa Hiroaki, Katagiri Hideki	4. 巻 59
2. 論文標題 Native Valve Endocarditis due to Staphylococcus warneri Developing in a Patient with Type 1 Diabetes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 2269 ~ 2274
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.4661-20	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 Kaneko Keizo, Sawada Shojiro, Satake Chihiro, Kondo Keiichi, Izumi Tomohito, Tanaka Mamiko, Imai Junta, Yamada Tetsuya, Katsushima Hiroki, Fujishima Fumiyoshi, Katagiri Hideki	4. 巻 20
2. 論文標題 Extraordinarily long-inactive solitary fibrous tumor transformed to produce big insulin-like growth factor-2, leading to hypoglycemia and rapid liposarcoma growth: a case report	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Endocrine Disorders	6. 最初と最後の頁 148
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12902-020-00624-2	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 Sawada Shojiro, Kodama Shinjiro, Tsuchiya Satoko, Kurosawa Satoko, Endo Akira, Sugawara Hiroto, Hosaka Shinichiro, Kawana Yohei, Asai Yoichiro, Yamamoto Junpei, Munakata Yuichiro, Izumi Tomohito, Takahashi Kei, Kaneko Keizo, Imai Junta, Imoto Hirofumi, Tanaka Naoki, Naitoh Takeshi, Ishigaki Yasushi, Katagiri Hideki	4. 巻 10
2. 論文標題 Continuous glucose monitoring in patients with remission of type 2 diabetes after laparoscopic sleeve gastrectomy without or with duodenojejunal bypass	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Obesity	6. 最初と最後の頁 e12409
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cob.12409	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 Sawada Shojiro, Tsuchiya Satoko, Kodama Shinjiro, Kurosawa Satoko, Endo Akira, Sugawara Hiroto, Hosaka Shinichiro, Kawana Yohei, Asai Yoichiro, Yamamoto Junpei, Munakata Yuichiro, Izumi Tomohito, Takahashi Kei, Kaneko Keizo, Imai Junta, Ito Azusa, Yasuda Masayuki, Kunikata Hiroshi, Nakazawa Toru, Katagiri Hideki	4. 巻 165
2. 論文標題 Vascular resistance of carotid and vertebral arteries is associated with retinal microcirculation measured by laser speckle flowgraphy in patients with type 2 diabetes mellitus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diabetes Research and Clinical Practice	6. 最初と最後の頁 108240 ~ 108240
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.diabres.2020.108240	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0件

〔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
---------	---------