

Banyu Foundation Research Grant 2011—生活習慣病領域—

研究成果報告書(最終) <概要>

所属	熊本大学大学院 生命科学研究部 病態生化学分野
氏名	佐藤 叔史
研究テーマ	低酸素ストレスによる膵β細胞障害の分子メカニズムの解明

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

**【研究目的】**β細胞機能低下、およびβ細胞量の低下は、2型糖尿病膵島の特徴である。申請者は、2型糖尿病マウス膵島の酸素濃度が低下しており、高グルコース負荷によりさらに著明に低酸素化されることを見出した(Sato. JBC 2011)(図 1)。しかし、①低酸素がβ細胞機能、生存度に与える影響について、②既存の細胞障害ストレスとして考えられている酸化ストレスや小胞体ストレスと低酸素ストレスとの関連については不明であった。申請者は、低酸素ストレスが糖尿病時のβ細胞の質的、量的低下に関与していると考え、その分子機構を明らかにすることは病態解明の一助になると考えた。本研究では、低酸素ストレスによるβ細胞障害性(インスリン分泌不全、細胞死)について検討するとともに、既存の細胞内ストレス(酸化ストレス、小胞体ストレス)との関連を検討する。

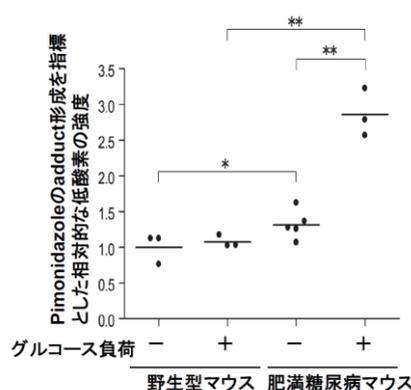


図1 糖尿病マウス膵島は低酸素に曝されている

**【研究手法】**MIN6 β細胞株を軽度低酸素(5~7%O<sub>2</sub>)に長時間(24~40h)暴露した後、以下の検討を行った。1) 低酸素下での糖応答性インスリン分泌をELISA法により評価した。2) 慢性的低酸素暴露によるMIN6 β細胞株の生存度についてもアネキシンV/PI染色、および切断型カスパーゼ3の検出により検討した。3) β細胞機能に必須な遺伝子発現の変化をリアルタイムPCR法にて評価した。4) 低酸素条件下で酸化ストレス原因因子ROSの産生に与える影響をフローサイトメトリーで、また小胞体ストレスの主要経路が活性化されているかはウエスタンブロッティング法、およびリアルタイムPCR法で検討した。

**【研究成果】**軽度低酸素(5-7%O<sub>2</sub>)の長時間培養は、糖応答性インスリン分泌を有意に低下させた。この時、β細胞の成熟やインスリン合成に必須な転写因子の発現が著明に低下していた。また機能面だけでなく、アネキシンV陽性細胞の増加、および切断型カスパーゼ3蛋白の増加を認め、低酸素暴露はアポトーシスを介したβ細胞死を引き起こした。すなわち軽度低酸素はβ細胞の質的、量的低下を助長することが明らかとなった(図 2)。さらに、軽度低酸素は、小胞体ストレスを惹起することが分かった(図 2)。糖尿病膵島において、小胞体ストレスが存在し、β細胞死(アポトーシス)を引き起こすことが知られている。インスリンなどの蛋白大量合成に伴う、小胞体への異常蛋白質の蓄積が小胞体ストレスの引き金と考えられているが、それとは別経路で小胞体ストレスの上流に、低酸素ストレスが存在する可能性が示された。β細胞低酸素を回避、軽減する治療法が開発できれば、糖尿病時の小胞体ストレスを軽減できる可能性がある。

β細胞低酸素を改善することが、糖尿病の治療になりうるかが、今後検討すべき課題である。

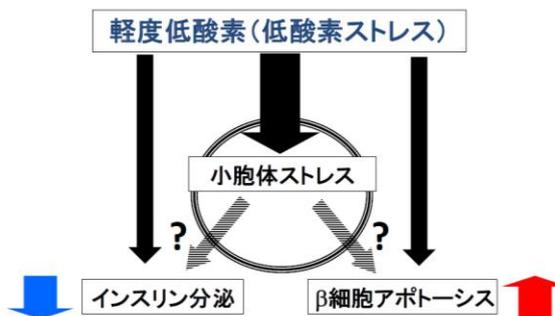


図2 本研究から明らかになった低酸素ストレスによるβ細胞障害機構



様式 4-2②

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。</li> <li>・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。</li> <li>・ 国内外を問わない。</li> <li>・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul>		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2013年 5月16～18日	第56回日本糖尿病学会年次学術集会 <u>佐藤 叔史</u> 、井上正宏、山縣 和也 軽度低酸素による膵β細胞障害機構の検討
2	2013年 5月16～18日	第56回日本糖尿病学会年次学術集会 Kazuya Yamagata, <u>Yoshifumi Sato</u> Hypoxic stress and pancreatic β-cell dysfunction.
3	2013年 4月23～26日	Beta Cell Workshop 2013 <u>Yoshifumi Sato</u> , Masahiro Inoue, Kazuya Yamagata Moderate hypoxia impairs glucose stimulated insulin secretion and accelerates apoptosis in pancreatic β-cells.
4	2012年 12月14～16日	第85回日本生化学会大会 MD. Fazlul Karim, <u>Yoshifumi Sato</u> , Tatsuya Yoshizawa, Kazuya Yamagata SIRT7 interacts directly with Myb-binding protein 1a.
5	2012年 6月26～29日	The 33 <sup>rd</sup> NAITO CONFERENCE <u>Yoshifumi Sato</u> , Masahiro Inoue, Ichiro Shimomura, Kazuya Yamagata Cellular hypoxia caused dysregulation of HNF4α expression in pancreatic-β cells.
6	2012年 5月17～19日	第55回日本糖尿病学会年次学術集会 <u>佐藤 叔史</u> 、井上正宏、下村伊一郎、山縣和也 膵島低酸素による転写因子 HNF-4α の発現低下機構の解析
7	2012年 5月17～19日	第55回日本糖尿病学会年次学術集会 山縣和也、 <u>佐藤 叔史</u> 、Karim Fazlul、吉澤達也 新規 HNF4α 標的遺伝子 Anks4b によるアポトーシス制御機構
8	2012年 5月17～19日	第55回日本糖尿病学会年次学術集会 大木剛、 <u>佐藤 叔史</u> 、吉澤達也、山田研太郎、山縣和也 新規 HNF1α 標的遺伝子 Hgfac の同定
9	2011年 12月	BMB2011(第34回日本分子生物学会 合同大会) <u>佐藤 叔史</u> 、八田 光世、モハメッドファズルルカリム、吉澤達也、山縣和也 膵β細胞における新規 HNF4α 標的遺伝子 Anks4b の機能解析
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2013年11月海外 雑誌投稿予定	PLOS ONE
2	2013年12月学会 発表予定	第36回 日本分子生物学会年会