

研究助成 2015—生活習慣病領域—

研究成果報告書(最終) <概要>

所 属	北海道大学大学院医学研究院 免疫・代謝内科学教室
氏 名	中村 昭伸
研究テーマ	グルコキナーゼの制御が 2 型糖尿病病態に与える影響

- ・ 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)

【背景・目的】

われわれは以前、20 週間という長期の高脂肪食をマウスに負荷する検討において、高脂肪食誘導性インスリン抵抗性に対する膵 β 細胞増殖メカニズムにおいては、グルコキナーゼと Insulin receptor substrate (IRS) -2 が重要な役割を果たしていることを明らかにした。しかしながら、インスリン抵抗性が生じないと考えられる短期の高脂肪食負荷により膵 β 細胞が増殖することは報告されているものの、そのメカニズムは明らかでない。そこでインスリン抵抗性が生じないと想定される短期の高脂肪食負荷による膵 β 細胞の増殖を検討し、そのメカニズムにおけるグルコキナーゼの役割を明らかにすることを本研究の目的とする。

【方法】

雄 8 週齢 C57bl/6J マウスを普通食飼育マウス群と高脂肪食負荷マウス群に群別し、2 日間、4 日間、7 日間飼育後にインスリン負荷試験を行い、その後各臓器を摘出し、膵 β 細胞増殖能および膵 β 細胞量を比較した。7 日間飼育後の上記両マウスの膵島を単離し、IRS-2 の遺伝子発現または蛋白発現を比較検討した。また、雄 8 週齢野生型およびグルコキナーゼヘテロ欠損マウスおよび IRS-2 欠損マウスを普通食飼育マウス群と高脂肪食負荷マウス群に群別し、7 日間飼育後の膵 β 細胞増殖能を比較検討した。さらに、雄 8 週齢 C57bl/6J マウスを 7 日間普通食及び高脂肪食下で飼育後に膵島を単離し、その遺伝子発現をマイクロアレイ法および real-time PCR 法で解析した。

【結果】

インスリン負荷試験によるインスリン抵抗性の評価を行ったところ、負荷 7 日目までは普通食飼育マウス群と高脂肪食負荷マウス群で明らかな差を認めなかった。膵 β 細胞増殖能を示す膵 β 細胞における BrdU 陽性細胞率は、負荷後 2 日目で差を認めず、4 日目において高脂肪食負荷マウス群で高値の傾向を認め、負荷後 7 日目において高脂肪食負荷マウス群で有意に高値であった。単離膵島での検討では、増殖に関連する Ki67 は高脂肪食群で有意に増加、PCNA は増加傾向を示したが、IRS-2 は蛋白発現も含め、差を認めなかった。そしてグルコキナーゼヘテロ欠損マウス、IRS-2 欠損マウスにおいても、野生型マウスと同様に BrdU 取り込み率は高脂肪食群で有意に高値であった。野生型マウスを 7 日間普通食及び高脂肪食下で飼育後に膵島を単離し、マイクロアレイ解析によりこの 2 群間の遺伝子発現を網羅的に比較したところ、高脂肪食群で発現が有意に 1.5 倍以上亢進していた遺伝子は 62 個存在していた。そして Gene Ontology 解析を行ったところ、細胞周期や細胞分裂といった機能をもつ遺伝子が多くを占めることがわかった。さらに階層型クラスタリング解析を行ったところ、CENP-A、CyclinB1、CyclinA2 が近傍に位置していることがわかった。既報によると、これらの上流に位置しているのが FoxM1 であるため、FoxM1 ならびにその下流に存在する遺伝子発現を real-time PCR 法で比較したところ、普通食群に比し、高脂肪食負荷群でこれらの遺伝子群の発現が有意に上昇していた。またマイクロアレイ解析で発現に差を認めた細胞周期関連因子の CyclinB1 や CyclinA2 の遺伝子発現が real-time PCR 法においても高脂肪食負荷群で有意な上昇を認めた。

【結論】

7 日間の短期高脂肪食負荷において、グルコキナーゼ、IRS-2 を介さずに膵 β 細胞が増殖することを見出し、高脂肪食誘導性膵 β 細胞増殖メカニズムは高脂肪食負荷の期間で異なる可能性が示唆された。

様式 4-2②

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 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。 ・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ・ 国内外を問わない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2017年9月	53rd Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes. Kitao N, Nakamura A, et al. Glucokinase- and insulin receptor substrate-2 independent pathway was involved in pancreatic beta cell replication induced by short-term high-fat diet feeding in mice
2	2017年4月	第90回日本内分泌学会年次学術集会 北尾直之、中村昭伸、高橋清彦、山本浩平、野本博司、曹圭龍、三好秀明、寺内康夫、渥美達也：短期高脂肪食負荷誘導性膵β細胞増殖機序の検討
3	2017年4月	第54回日本臨床分子医学会学術集会 北尾直之、中村昭伸、山本浩平、野本博司、曹圭龍、三好秀明、寺内康夫、渥美達也：短期高脂肪食負荷誘導性膵β細胞増殖メカニズムの検討
4	2017年2月	第31回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会 北尾直之、中村昭伸、高橋清彦、山本浩平、三好秀明、寺内康夫、渥美達也：短期高脂肪食負荷誘導性膵β細胞増殖におけるグルコキナーゼの役割
5	2017年1月	第20回日本病態栄養学会年次学術集会 中村昭伸、北尾直之、三好秀明、寺内康夫、渥美達也：高脂肪食負荷誘導性膵β細胞増殖メカニズムの検討
6	2016年9月	52nd Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes. Nakamura A, Takahashi K, Kitao N, Miyoshi H, Terauchi Y, Atsumi T. Transient effect of glucokinase activator on beta cell proliferation.
7	2016年7月	第34回内分泌代謝学サマーセミナー若手シンポジウム 中村昭伸、北尾直之、高橋清彦、三好秀明、寺内康夫、渥美達也：2型糖尿病の新たな治療に向けて～膵β細胞を増やす、守る、復活させる～
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2018年2月	第32回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会で発表予定
2	2017年11月	英文誌に投稿予定(雑誌名未定)
3		
4		