

研究助成 2019 – 生活習慣病領域 –
研究成果報告書（最終） <概要>

所 属	東京大学医学部附属病院 糖尿病・代謝内科
氏 名	五十嵐 正樹
研究テーマ	腸管上皮の老化関連遺伝子制御による生活習慣病の改善

- 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、研究手法、研究成果などを、1 ページにまとめること。
（図表、写真などの貼付を含む）

（研究目的） 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。

（研究手法） 腸管上皮特異的 SIRT1 ノックアウトマウス(Villin cre floxed SIRT1 (VilKO))、内分泌前駆細胞特異的 SIRT1 ノックアウトマウス (Neurogenin3 cre floxed SIRT1 (NgnKO))、腸管上皮特異的 p53 ノックアウトマウス(Villin cre ER floxed p53)、腸管上皮特異的 Rb ノックアウトマウス (Villin cre ER floxed Rb)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。

（研究成果） 高脂肪を負荷した VilKO 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 VilKO マウスで 2 倍以上に増加した。高脂肪を負荷した VilKO 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 およびβカテニンの発現上昇を認め、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。VilKO 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 VilKO 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β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細胞周期の進行が Neurogenin3 発現上昇、内分泌細胞の増加を来すものと考えられた。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、肝グリコーゲン含量低下を認めた。腸管内分泌前駆細胞特異的 p53 ノックアウトマウス(Neurogenin3 cre floxed p53)ではアラニン負荷テストでの AUC 低下を認めないことから、内分泌細胞以外の腸管上皮細胞の細胞老化が肝糖新生を制御するものと考えられた。細胞老化を誘導したマウス (Villin cre ER floxed Mdm2 マウス) の解析などを含めて高齢者糖尿病の病態解明へと進む。

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	2021年5月	日本糖尿病学会 三浦 雅臣、 <u>五十嵐正樹</u> 、中川 佳子、山内 敏正、門脇 孝 長寿遺伝子 SIRT1 の腸管内分泌細胞における役割の解明
2	2021年4月	日本内分泌学会 三浦 雅臣、 <u>五十嵐正樹</u> 、中川 佳子、門脇 孝、山内 敏正 腸管上皮における SIRT1 の機能解析
3	2021年3月	日本肥満学会 三浦 雅臣、 <u>五十嵐正樹</u> 、中川 佳子、門脇 孝、山内 敏正 腸管における SIRT1 活性のメカニズム解析
4	2020年10月	日本糖尿病学会 三浦 雅臣、 <u>五十嵐正樹</u> 、中川 佳子、門脇 孝、山内 敏正 腸管上皮における SIRT1 制御のメカニズム解析
5	2020年9月	日本抗加齢学会 <u>五十嵐正樹</u> 、三浦 雅臣、中川 佳子、山内 敏正 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
6	2020年8月	日本老年医学会 <u>五十嵐正樹</u> 、三浦 雅臣、中川 佳子、山内 敏正 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. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2022年	Gastroenterology 投稿予定
2		
3		
4		