

令和 2 年 7 月 1 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19724

研究課題名(和文) 脂肪酸が誘導する膵臓 細胞増殖の新規メカニズムの解明と糖尿病治療への応用

研究課題名(英文) Elucidation of the novel mechanism of the fatty acid-induced pancreatic beta-cell proliferation and its application to diabetes treatment

研究代表者

松坂 賢 (Matsuzaka, Takashi)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：70400679

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：膵 細胞の増殖機序を解明することは、2型糖尿病の予防および治療を考える上で重要である。本研究では、膵臓 細胞の増殖を促進する脂肪酸を特定するとともに、その作用機序を分子レベルで解明することを目的とした。マウスの膵臓からランゲルハンス島を単離し、炭素鎖長および不飽和度の異なる様々な脂肪酸を添加した培地で培養し、細胞の増殖能の評価を行った。その結果、オレイン酸とリノール酸に膵 細胞増殖促進効果があることを見出した。また、これらの脂肪酸の効果は細胞内に取り込まれて活性化されることが必要であること、細胞増殖に重要なシグナル伝達分子Xが関与することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体における脂肪酸の長期的な投与は膵臓 細胞の増殖を引き起こす一方、場合によっては脂肪毒性を引き起こす可能性があるが「脂肪酸により制御される 細胞増殖経路」を選択的にコントロールできれば、脂肪毒性を引き起こすことなく膵臓 細胞量を増加させることが可能となる。本研究の成果は、糖尿病の新しい発症機序の解明や新規糖尿病治療薬の開発に役立つだけでなく、機能性食品の開発、iPS細胞等を利用した再生医療における膵 細胞の効率的な作製への応用も期待される。

研究成果の概要(英文)：Elucidation of the molecular mechanism of pancreatic beta-cell proliferation is important for the prevention and treatment of type 2 diabetes. The aim of this study is to identify the specific fatty acid(s) that activate beta-cell proliferation. We isolated pancreatic islets from mice and treated with various types of fatty acids. We found that oleic acid (C18:1n-9) and linoleic acid (C18:2n-6) strongly stimulated the proliferation of pancreatic beta-cells. We also found that the activation of these fatty acids within beta-cells was necessary for the proliferation of beta-cells and signalling molecule X was involved in this effect.

研究分野：代謝内分泌学

キーワード：オレイン酸 リノール酸 脂肪毒性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

2 型糖尿病の爆発的増加の背景にあるものは、栄養の過剰摂取(過栄養)と、その結果起こる肥満である。過栄養・肥満ではインスリン抵抗性を合併するため、血糖値を正常に保つためにインスリン需要は大きくなる。このような状況にあって、膵臓細胞は代償的に質的・量的にその活動を高めて対処するが、過栄養・肥満が細胞にもたらす作用には障害をもたらすものもあり、それが相対的に大きくなった場合に、膵臓細胞量は減少しはじめ、2 型糖尿病が発症すると考えられている。したがって、膵臓細胞の増殖機序を解明することは、2 型糖尿病の予防および治療を考える上で極めて重要である。

我々は、脂肪酸の炭素数 16 から 18 への伸長反応を担う酵素 Elovl6 の糖尿病における役割を解析し、肥満・2 型糖尿病モデル db/db マウスにおける Elovl6 の欠損は、膵臓細胞量およびインスリン分泌量の増加をもたらす、2 型糖尿病の発症を抑制することを報告した (Diabetes 2017)。この過程において、マウス膵臓ランゲルハンス島にオレイン酸 (C18:1n-9) をふりかけると、膵臓細胞の増殖が著明に亢進することを見出した。このような作用は飽和脂肪酸には認められなかった。すなわち、ある種の脂肪酸には膵臓細胞の増殖を刺激する効果があり、その作用を解明することは、膵臓細胞の増殖機構の新しい理解や糖尿病の新規予防・治療標的の発見につながると期待される。

2. 研究の目的

そこで、本研究では、膵臓細胞の増殖を促進する脂肪酸を特定するとともに、その作用機序を分子レベルで解明することにより、糖尿病の新規予防法・治療法につながる知見を得ることを目的とした。

3. 研究の方法

膵臓細胞増殖を促進する脂肪酸の特定：マウスの膵臓からランゲルハンス島を単離し、炭素鎖長および不飽和度の異なる様々な脂肪酸を添加した培地で培養し、細胞の増殖能の評価を行った。細胞の増殖は、修飾チミジンアナログ EdU の細胞への取り込みを蛍光免疫染色により観察、定量的に評価した。同時に、脂肪酸による毒性を、死細胞の propidium iodide 核染色およびアポトーシスマーカー cleaved caspase-3 の免疫染色にて評価した。

特定した脂肪酸が膵臓細胞増殖作用を発揮する場の特定：特定した脂肪酸の細胞増殖作用が、細胞膜に存在する脂肪酸受容体を介した効果であるのか、あるいは細胞内に取り込まれて代謝されることによるものなのかを明らかにする。

・脂肪酸受容体 (GPR40) の阻害：膵臓細胞における炭素数 12-22 の脂肪酸の受容体として、GPR40 が報告されている。脂肪酸と同時に GPR40 阻害剤を添加し、細胞増殖能に対する影響を方法 1 と同様の方法で評価した。

・アシル CoA 合成酵素の阻害：培地中に添加された脂肪酸は、細胞内に取り込まれた後、細胞質で長鎖脂肪酸 CoA 合成酵素により CoA を付加されることにより活性化されて代謝される。脂肪酸と同時にアシル CoA 合成酵素阻害剤処理を行い、細胞増殖能に対する影響を評価した。

特定した脂肪酸による膵臓細胞増殖作用機序の解明：脂肪酸による作用機序が脂肪酸受容体 GPR40 を介している場合、この受容体の下流でシグナル伝達を行うホスホリパーゼ C やプロテインキナーゼ C の活性化や、細胞の増殖に関与することが報告されている Wnt/ -catenin 経路の活性化を免疫染色、western blot、遺伝子発現解析により解析する。また、活性化剤や阻害剤を用いて、そのパスウェイの重要性を確認する。脂肪酸の細胞内代謝産物だった場合、トランスクリプトーム解析を行い、脂肪酸により影響を受ける代謝パスウェイやシグナル伝達経路を抽出する。

4. 研究成果

マウスの膵臓から膵臓ランゲルハンス島を単離し、各種脂肪酸を添加した培地に培養して細胞の増殖能の評価した結果、オレイン酸とリノール酸 (C18:2n-6) に強い膵細胞増殖促進効果があることを明らかにした。また、各種脂肪酸のうち、飽和脂肪酸やオレイン酸は膵細胞のアポトーシスを惹起するのに対し、リノール酸にはそのような作用は認められなかった。すなわち、リノール酸は膵細胞の細胞死は誘導せずに増殖を促進し、オレイン酸は膵細胞増殖効果を持つとともに細胞死も一部誘導することが明らかとなった。また、阻害剤を用いた実験から、これらの脂肪酸の効果には GPR40 は必須でないこと、細胞内に取り込まれて脂肪酸 CoA として活性化されることが必要であることが明らかとなった。さらに、オレイン酸およびリノール酸による細胞増殖効果には、シグナル伝達分子 X が関与することを見出した。また、トランスクリプトーム解析を行い、細胞の増殖と相関して発現が変化する遺伝子を複数見出し、リアルタイム PCR でもその発現変化を確認した。今後、これらシグナル伝達分子や遺伝子の細胞への増殖促進効果を、マウス単離ラ氏島や膵細胞株で検証する。

本研究により、オレイン酸とリノール酸が膵細胞の増殖を促進することが明らかとなった。これは、高脂肪食誘導性の肥満マウスにおける膵細胞の過形成の機序の一部を説明するものと考えられる。生体における脂肪酸の長期的な投与は、膵臓細胞の増殖を引き起こす一方、場合によっては脂肪毒性を引き起こす可能性があるが、「脂肪酸により制御される細胞増殖経路」を選択的にコントロールできれば、脂肪毒性を引き起こすことなく膵臓細胞量を増加させる

ことが可能となる。この研究の進展は、2型糖尿病の新しい発症機序の解明や新規糖尿病治療薬の開発に役立つだけでなく、機能性食品の開発、iPS細胞等を利用した再生医療における膵細胞の効率的な作製への応用も期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Satoh A, Han SI, Araki M, Nakagawa Y, Ohno H, Mizunoe Y, Kumagai K, Murayama Y, Osaki Y, Iwasaki H, Sekiya M, Konishi M, Itoh N, Matsuzaka T, Sone H, Shimano H.	4. 巻 23(3)
2. 論文標題 CREBH Improves Diet-Induced Obesity, Insulin Resistance, and Metabolic Disturbances by FGF21-Dependent and FGF21-Independent Mechanisms.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience.	6. 最初と最後の頁 100930
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2020.100930.	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 -
1. 著者名 Ma Y, Sekiya M, Kainoh K, Matsuda T, Iwasaki H, Osaki Y, Sugano Y, Suzuki H, Takeuchi Y, Miyamoto T, Yahagi N, Nakagawa Y, Matsuzaka T, Shimano H.	4. 巻 523(2)
2. 論文標題 Transcriptional co-repressor CtBP2 orchestrates epithelial-mesenchymal transition through a novel transcriptional holocomplex with OCT1.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 354-360
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.12.070.	査読の有無 有
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 Matsuzaka T, Kuba M, Koyasu S, Yamamoto Y, Motomura K, Arulmozhiraja S, Ohno H, Sharma R, Shimura T, Okajima Y, Han SI, Aita Y, Mizunoe Y, Osaki Y, Iwasaki H, Yatoh S, Suzuki H, Sone H, Takeuchi Y, Yahagi N, Miyamoto T, Sekiya M, Nakagawa Y, Ema M, Takahashi S, Tokiwa H, Shimano H.	4. 巻 71(5)
2. 論文標題 Hepatocyte ELOVL Fatty Acid Elongase 6 Determines Ceramide Acyl-Chain Length and Hepatic Insulin Sensitivity in Mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hepatology.	6. 最初と最後の頁 1609-1625
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/hep.30953.	査読の有無 有
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 Miyamoto T, Matsuzaka T, Shimano H.	4. 巻 10(5)
2. 論文標題 Rho-associated, coiled-coil-containing protein kinase 1 as a new player in the regulation of hepatic lipogenesis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Diabetes Investig.	6. 最初と最後の頁 1165-1167
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13051.	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 -

1. 著者名 Sato A, Han SI, Araki M, Nakagawa Y, Ohno H, Mizunoe Y, Kumagai K, Murayama Y, Osaki Y, Iwasaki H, Sekiya M, Konishi M, Itoh N, Matsuzaka T, Sone H, Shimano H.	4. 巻 23(3)
2. 論文標題 CREBH Improves Diet-Induced Obesity, Insulin Resistance, and Metabolic Disturbances by FGF21-Dependent and FGF21-Independent Mechanisms.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience.	6. 最初と最後の頁 100930
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2020.100930.	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 -

1. 著者名 Ma Y, Sekiya M, Kainoh K, Matsuda T, Iwasaki H, Osaki Y, Sugano Y, Suzuki H, Takeuchi Y, Miyamoto T, Yahagi N, Nakagawa Y, Matsuzaka T, Shimano H.	4. 巻 523(2)
2. 論文標題 Transcriptional co-repressor CtBP2 orchestrates epithelial-mesenchymal transition through a novel transcriptional holocomplex with OCT1.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 354-360
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.12.070.	査読の有無 有
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 Matsuzaka T, Kuba M, Koyasu S, Yamamoto Y, Motomura K, Arulmozhiraja S, Ohno H, Sharma R, Shimura T, Okajima Y, Han SI, Aita Y, Mizunoe Y, Osaki Y, Iwasaki H, Yatch S, Suzuki H, Sone H, Takeuchi Y, Yahagi N, Miyamoto T, Sekiya M, Nakagawa Y, Ema M, Takahashi S, Tokiwa H, Shimano H.	4. 巻 71(5)
2. 論文標題 Hepatocyte ELOVL Fatty Acid Elongase 6 Determines Ceramide Acyl-Chain Length and Hepatic Insulin Sensitivity in Mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hepatology.	6. 最初と最後の頁 1609-1625.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/hep.30953.	査読の有無 有
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 Miyamoto T, Matsuzaka T, Shimano H.	4. 巻 10(5)
2. 論文標題 Rho-associated, coiled-coil-containing protein kinase 1 as a new player in the regulation of hepatic lipogenesis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Diabetes Investig.	6. 最初と最後の頁 1165-1167
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13051.	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 -

1. 著者名 本村香織、松坂賢	4. 巻 46(1)
2. 論文標題 脂肪酸による膵 細胞増殖作用	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Medical Science Digest	6. 最初と最後の頁 64-66
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Sharma R, Matsuzaka T, Kaushik MK, Sugasawa T, Ohno H, Wang Y, Motomura K, Shimura T, Okajima Y, Mizunoe Y, Ma Y, Saber ZM, Iwasaki H, Yatoh S, Suzuki H, Aita Y, Han SI, Takeuchi Y, Yahagi N, Miyamoto T, Sekiya M, Nakagawa Y, Shimano H.	4. 巻 9(1)
2. 論文標題 Octacosanol and policosanol prevent high-fat diet-induced obesity and metabolic disorders by activating brown adipose tissue and improving liver metabolism.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 5169
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-41631-1.	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 -

1. 著者名 Nakamura Y, Matsuzaka T, Tahara-Hanaoka S, Shibuya K, Shimano H, Nakahashi-Oda C, Shibuya A.	4. 巻 9(12)
2. 論文標題 Elovl6 regulates mechanical damage-induced keratinocyte death and skin inflammation.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Death Dis.	6. 最初と最後の頁 1181
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41419-018-1226-1.	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 -

1. 著者名 Ohno H, Matsuzaka T, Tang N, Sharma R, Motomura K, Shimura T, Satoh A, Han SI, Takeuchi Y, Aita Y, Iwasaki H, Yatoh S, Suzuki H, Sekiya M, Nakagawa Y, Sone H, Yahagi N, Yamada N, Higami Y, Shimano H.	4. 巻 159(6)
2. 論文標題 Transgenic Mice Overexpressing SREBP-1a in Male ob/ob Mice Exhibit Lipodystrophy and Exacerbate Insulin Resistance.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Endocrinology.	6. 最初と最後の頁 2308-2323
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/en.2017-03179.	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 -

1. 著者名 Karasawa T, Kawashima A, Usui-Kawanishi F, Watanabe S, Kimura H, Kamata R, Shirasuna K, Koyama Y, Sato-Tomita A, Matsuzaka T, Tomoda H, Park SY, Shibayama N, Shimano H, Kasahara T, Takahashi M.	4. 巻 38(4)
2. 論文標題 Saturated Fatty Acids Undergo Intracellular Crystallization and Activate the NLRP3 Inflammasome in Macrophages.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Arterioscler Thromb Vasc Biol.	6. 最初と最後の頁 744-756
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/ATVBAHA.117.310581.	査読の有無 有
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3件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 本村香織、松坂賢、大野博、宮本崇史、関谷元博、中川嘉、島野仁
2. 発表標題 臍 細胞の増殖を誘導する脂肪酸の探索とその分子機構の解析
3. 学会等名 第56回日本臨床分子医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松坂賢、島野仁
2. 発表標題 脂肪酸伸長酵素 Elovl6 による脂肪酸の質の制御と組織内蓄積脂肪
3. 学会等名 第40回日本臨床栄養学会総会・第39回日本臨床栄養協会総会 第16回大連合大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松坂賢、島野仁
2. 発表標題 脂肪酸の質的变化による脂質代謝、エネルギー代謝
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

筑波大学 医学医療系 内分泌代謝・糖尿病内科
<https://www.u-tsukuba-endocrinology.jp/>
松坂研究室
<http://matsuzakalab-tsukuba.org/>

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