HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	短期高脂肪食負荷はグルコキナーゼおよびIRS-2非依存的経路を介して膵β細胞増殖を誘導する［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	北尾, 直之
Description	配架番号：2375
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12996号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70272
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Naoyuki_Kitao_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（医　学）　氏名　北　尾　直　之

学 位 論 文 題 名

短期高脂肪食負荷はグルコキナーゼおよび IRS-2 非依存的経路を介して膵β細胞増殖を誘導する（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）

【背景と目的】

糖尿病の成因のほとんどを 2 型糖尿病が占めており、近年増加の一途を辿っている。2 型糖尿病は、末梢組織におけるインスリン抵抗性および膵β細胞からのインスリン分泌障害という 2 つの主要な病態を特徴とする。この状態は、膵β細胞が末梢組織におけるインスリン抵抗性に対するインスリンの代償性増加を補うことができない場合に起こる。したがって、インスリン分泌低下は、1 型糖尿病のみならず 2 型糖尿病の病態においても重要であると考えられる。インスリン分泌低下の主な原因の 1 つが膵β細胞量の減少であることが報告されていることから、膵β細胞量を増加させることは糖尿病における理想的な治療戦略となりうる。膵β細胞増殖は、高脂肪食摂取、膵部分切除術および妊娠を含むいくつかの方法によって、マウスにおいて実験的に誘導することができる。既報において、高脂肪食を 20 週間与えた野生型マウスは膵β細胞増殖による顕著な膵β細胞過形成および insulin receptor substrate(IRS)-2 の発現上昇を示したが、膵β細胞特異的グルコキナーゼヘテロ欠損（glucokinase(Gck)$^{+/-}$）マウスは野生型マウスと同程度のインスリン抵抗性を有するにもかかわらず、膵β細胞増殖、過形成および IRS-2 発現上昇が欠如していた。これらの結果は、グルコキナーゼと IRS-2 が、20 週間という長期の高脂肪食負荷誘導性膵β細胞増殖に重要な役割を果たしていることを示唆している。しかしながら、このモデルにおける膵β細胞増殖が、高脂肪食そのものによって引き起こされるのか、または高脂肪食で誘導されるインスリン抵抗性に関連する持続的な代謝変化によって誘発されるのかは明らかではない。近年、短期の高脂肪食負荷による膵β細胞の増殖が報告され、この増殖がインスリン抵抗性の発症なしに起こることも示されている。これらの知見から、我々は短期の高脂肪食負荷で誘導される膵β細胞増殖の機序と長期の高脂肪食負荷で誘導される膵β細胞増殖の機序とは異なる可能性があると考えた。本研究では、短期の高脂肪食で誘導される膵β細胞増殖におけるグルコキナーゼと IRS-2 の役割について検討した。

【方法と結果】

1. 短期高脂肪食負荷によるマウス膵β細胞増殖への影響

8 週齢の雄の C57BL/6J マウス、Gck$^{+/-}$マウス、IRS-2 欠損（Irs2$^{-/-}$）マウスに普通食または高脂肪食を 1 週間与え、屠殺した後に膵臓を取り出し、膵β細胞増殖を酵素抗体免疫

染色法にて BrdU 染色を行い評価した。C57BL/6J マウス、$Gck^{+/-}$マウス、$Irs2^{-/-}$マウスのいずれにおいても、普通食群と比較して高脂肪食群で有意に BrdU 陽性膵β細胞率が増加していた。

2. 短期高脂肪食負荷による膵島の遺伝子発現の変化

8 週齢の雄の C57BL/6J マウスに普通食または高脂肪食を 1 週間与え、膵島を単離し、その遺伝子発現を real-time PCR 法およびマイクロアレイ法を用いて解析した。普通食群と比較して高脂肪食群では細胞増殖のマーカーである Ki67 が有意に増加していたが、一方で Gck や Irs2 には差を認めなかった。階層型クラスタリング解析では Ccna, Ccnb1, Cenpa が短期高脂肪食負荷による膵β細胞増殖に関与していることが示唆された。細胞周期に関与する遺伝子群において Ccna, Ccnb1, Cenpa の上流に位置する転写因子である Foxm1 が高脂肪食群で有意に遺伝子発現が増加していた。

3. Rapamycin による短期高脂肪食負荷誘導性膵β細胞増殖への影響

8 週齢の雄の C57BL/6J マウスに普通食または高脂肪食を 1 週間与える実験モデルにおいて、Foxm1 シグナル伝達を抑制することが知られている mTOR 阻害剤である Rapamycin を隔日で投与し、膵β細胞増殖を膵臓の BrdU 染色で評価した。結果、Rapamycin の投与によって、短期高脂肪食負荷誘導性膵β細胞増殖は抑制された。

4. 短期高脂肪食負荷による高齢マウスでの膵β細胞増殖への影響

48 週齢の雄の C57BL/6J マウスに普通食または高脂肪食を 1 週間与え、屠殺した後に膵臓を取り出し、膵β細胞増殖を酵素抗体免疫染色法にて BrdU 染色を行い評価した。また、単離膵島での遺伝子発現を real-time PCR 法で解析した。8 週齢のマウスと同様に普通食群と比較して高脂肪食群で有意に BrdU 陽性膵β細胞率が増加していた。また単離膵島での遺伝子発現においては、高脂肪食群で Ki67 と Foxm1 の有意な上昇を認めたが、Irs2 には差を認めなかった。

【考察と結論】

インスリン抵抗性の生じない 1 週間という短期の高脂肪食負荷においても膵β細胞増殖が誘導されることを見出した。その増殖機序はグルコキナーゼおよび IRS-2 非依存的な経路と考えられ、短期間の高脂肪食負荷による膵β細胞増殖の機序と、慢性的な長期間の高脂肪食負荷による膵β細胞増殖の機序は異なる可能性がある。Foxm1 を介する短期高脂肪食負荷誘導膵β細胞増殖は高齢のマウスでも同様に観察された。これまで、長期の高脂肪食負荷で膵β細胞増殖が誘導されることについて、インスリン抵抗性が関与することが示唆されていたが、今回の検討によりインスリン抵抗性を介さない膵β細胞増殖の機序を新たに確認することができた。短期高脂肪食負荷による膵β細胞増殖は高齢のマウスでも認められ、このことは細胞増殖能の低下した高齢者に対する膵β細胞増殖の可能性を示唆している。これらの知見は、膵β細胞量を増加させ、それにより 2 型糖尿病の発症予防または進展抑制に導く新しい治療のアプローチを提供し得る。高脂肪食を 1 週間摂取するという実験モデルはヒトへは応用が難しいため、短期高脂肪食による膵β細胞増殖の機序をさらに詳しく解明し、治療ターゲットを探求する必要がある。