

膵β細胞による老化制御機構の解明ならびに 糖尿病予防・抗老化医療への応用

藤田医科大学 医学部 内分泌・代謝・糖尿病内科学
助教 村尾 直哉

はじめに

糖尿病は代表的な老化関連疾患である。インスリンは膵β細胞から分泌されるホルモンであり、正常血糖の維持に必須であることから、加齢に伴うインスリン作用の変化が高齢者における糖尿病の新規発症に関与すると予想されてきた。さらに、インスリンシグナルは個体老化そのものを促進する因子として知られている。しかし、加齢に伴うインスリン作用の変化が高齢者糖尿病ならびに老化においてどのような役割を果たしているかについては、知見が十分でない。

近年、筆者らは「加齢に伴い膵β細胞の細胞質グルコース/NAD代謝が変容し、グルコース応答性インスリン分泌（GIIS）が亢進する」ことを、マウスを用いて明らかにした（図1A：Murao *et al.*, *Mol Metab* 2022）。この知見に基づき、「β細胞の加齢

性変化は、高齢者における糖尿病発症の誘因となり、同時に血中インスリンの増加により個体老化をもたらす」という仮説を設定した（図1A）。

この仮説を検証するために、本研究では以下の3課題について検討を行った。

【課題1】 グルコース/NAD代謝がβ細胞の加齢性変化を制御する分子機構を解明する。

【課題2】 β細胞の加齢性変化を欠失したモデルマウスを確立する（図1B）。

【課題3】 薬剤や食餌によりβ細胞の加齢性変化を抑制することが糖尿病・老化予防につながるかを検討する（図1C）。

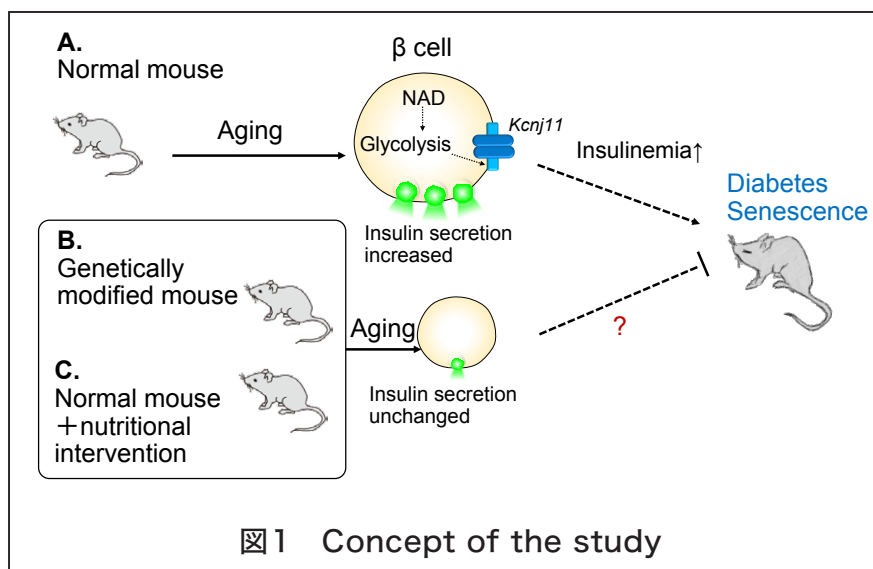


図1 Concept of the study

結 果

【課題1】 グルコース/NAD代謝が β 細胞の加齢性変化を制御する分子機構の解明

筆者らは先行研究において、高齢 β 細胞においてグルコース応答性インスリン分泌 (GIIS) の上昇ならびにインスリン含量の低下が認められること、同時にNADならびにグルコースの代謝が変容していることを見出している (Murao *et al.*, *Mol Metab* 2022)。すなわち、NAD合成酵素Nmnat2の発現が上昇し、細胞質におけるNAD合成が増加するとともに解糖系の亢進が認められる。

NAD代謝の変容のみにより β 細胞の加齢性変化が再現できるかを検討するために、マウス β 細胞株 (MIN6-K8) において、Nmnat2をアデノウイルスにより過剰発現させ、グルコース応答性インスリン分泌 (GIIS) ならびにインスリン含量への影響を検討した。しかし、GIIS (図2A) に変化は認められず、インスリン含量はわずかに増加したことから (図2B)、高齢 β 細胞に類似した変化は認められなかった。

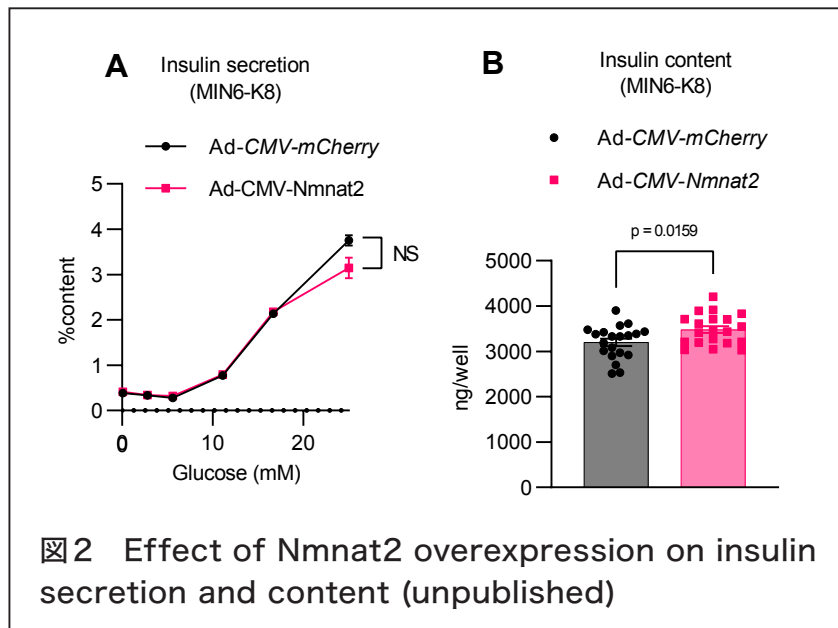


図2 Effect of Nmnat2 overexpression on insulin secretion and content (unpublished)

【課題2】 β 細胞の加齢性変化を欠失したモデルマウスの確立

GIISの亢進を主とする β 細胞の加齢性変化が個体老化にどのような影響を及ぼすかを明らかにするために、加齢に伴うGIISの亢進を示さないモデルマウスを確立することを目標とした。

β 細胞において、ATP感受性Kチャネル (K_{ATP} チャネル) はグルコースのセンサーとして働き、

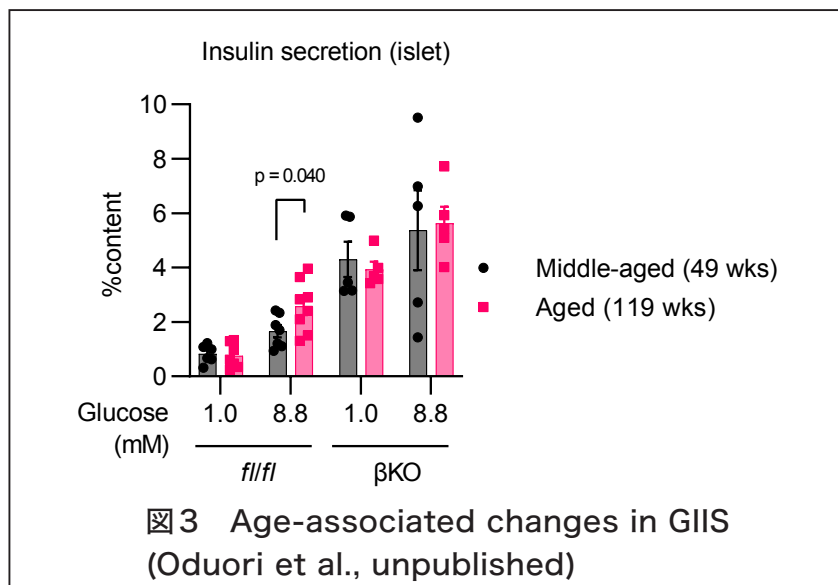


図3 Age-associated changes in GIIS (Oduori *et al.*, unpublished)

インスリン分泌を惹起する。日筆者らは、先行研究においてK_{ATP}チャネルのポア構成サブユニットである*Kcnj11*をβ細胞に特異的に欠損したマウス (RIP-Cre; *Kcnj11*^{fl/fl}、以下β KOと表記する) を確立した (Oduori *et al.*, *J Clin Invest* 2020)。β KOのβ細胞においては生下時よりグルコースへの応答性が欠失している。さらに、中齢(49週)ならびに高齢(119週) 個体の単離膵島におけるGIISを比較したところ、コントロールマウス (*fl/fl*) においては加齢に伴う上昇が認められたが、β KOにおいては認められなかった (図3)。したがって、β KOは加齢に伴うGIISの亢進を欠失していることが示唆された。

【課題3】 食事によるβ細胞の加齢性変化への介入が全身代謝に与える影響

β細胞からのインスリン分泌は、多様な栄養素によって制御されている。マウスにおけるβ細胞の加齢性変化はGIISの亢進を特徴とすることから、インスリン分泌刺激の少ない食事がβ細胞の加齢性変化に抑制的に作用し、個体老化にも影響を与えると予想した。

	カロリー組成 (%)	
	CD	LP
炭水化物	59.36	77.86
タンパク質	23.84	5.67
脂質	16.8	16.47

表1

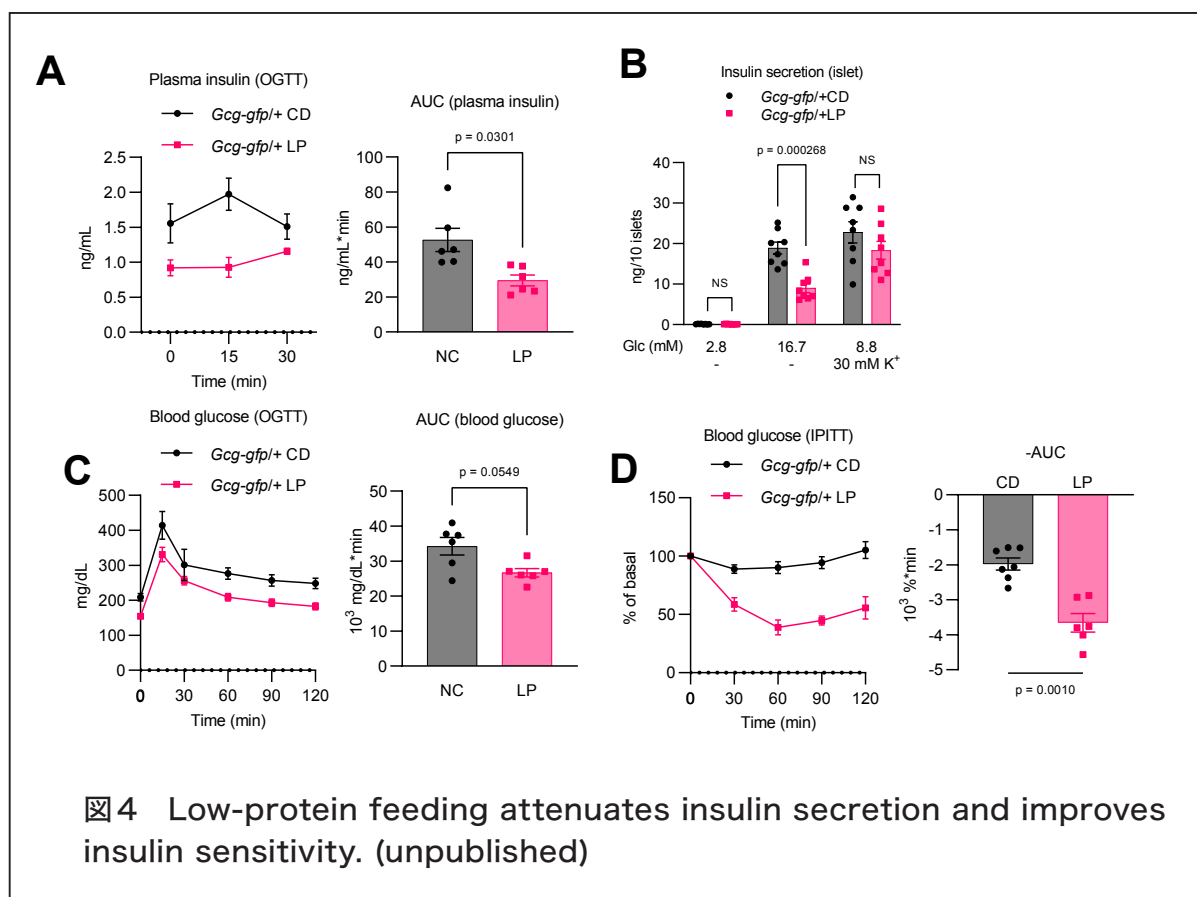
インスリン分泌に対する促進作用が小さい栄養組成として、低タンパク質・高炭水化物食を候補とした。プログルカゴン欠損マウスのヘテロ個体 (*Gcg-gfp/+*) (Hayashi *et al.*, *Mol Endocrinol* 2009) を用いて、通常食 (CD) ならびに低タンパク質・高炭水化物食 (LP) を3週間自由摂餌させた (表1)。LPにおいて、空腹時ならびに経口糖負荷後の血中インスリン反応はCDに比して低値であった (図4A)。単離膵島においても、16.7 mMグルコースによるインスリン分泌が低下していたが、高濃度 (30 mM) カリウム刺激によるインスリン分泌は変化していなかった。これらの結果より、LPはβ細胞のGIISに抑制的に作用することが示された。

この一方で、耐糖能はLPにおいてCDに比してむしろ改善傾向を示し (図4C)、インスリン感受性の顕著な亢進が認められた (図4D)。したがって、LPは耐糖能を悪化させずにβ細胞のGIISを抑制し、血中インスリンを低下させることが示された。

考 察

【課題1】

本研究の結果から、β細胞の加齢性変化を誘導するためには、*Nmnat2*の発現上昇に加えて解糖系の亢進が必要であることが示唆された。先行研究において、高齢β細胞においては解糖系の律速段階であるグルコースからグルコース-6リン酸への変換が亢進し、下流の解糖系ならびにTCA回路への炭素流入が増加していることを見出している (Murao *et al.*,



Mol Metab 2022)。グルコースからグルコース-6リン酸への変換反応を担うグルコキナーゼまたはヘキソキナーゼ1、2と *Nmnat2* とを組み合わせると過剰発現することにより、 β 細胞の加齢性変化を誘導できるか検討する予定である。

【課題2】

本研究の結果から、 β 細胞の加齢性変化を欠失させるための実験的介入法として、 β 細胞における *Kcnj11* のノックアウトが有用であると考えられた。その一方で、本研究において用いた RIP-Cre; *Kcnj11^{fl/fl}* は恒久的なノックアウトマウスであるため、生下時からGIISを欠いていることが加齢に伴う全身の代謝変化に影響し、結果の解釈を困難にする可能性がある (Oduori *et al.*, *J Clin Invest* 2020)。長期的、二次的な代謝変化によるバイアスを最小限にするために、薬剤誘導性の β 細胞特異的 *Kcnj11* ノックアウトマウスを作成することが望ましい。現在、タモキシフェン誘導性の β 細胞Creドライバーマウス MIP-CreERT (Tamarina *et al.*, *Islets* 2014) との交配を進めている。

MIP-CreERT/*Kcnj11-flox* を用いて、*Kcnj11* のノックアウトがインスリン分泌ならびに全身糖代謝に及ぼす短期的あるいは長期的な影響を明らかにする。さらに、当該マウスの各代謝臓器 (肝臓、脂肪、腸管、筋肉) ならびに寿命の解析を行い、インスリン分泌動態と寿命との関係を解明する予定である。

【課題3】

本研究から、3週間の低タンパク質・高炭水化物食摂取がGIISを抑制することを見出した。したがって、加齢に伴う β 細胞のGIISの亢進にも抑制的に作用することが期待される。

今後は、1年以上の長期投与を行い膵島機能ならびに全身代謝の変化を経時的に評価することにより、低タンパク質・高炭水化物食が β 細胞ならびに全身の老化に及ぼす影響を明らかにする。なお、タンパク質の制限は筋量低下の誘因となりうることから、筋量および筋力への影響に注意して検討する。

要 約

本研究では、 β 細胞の加齢性変化の分子機構を検討するとともに、主要な変化であるGIISの亢進に着目し、これを欠失したマウスモデルや栄養学的介入方法を探索した。まず、 β 細胞の加齢性変化にはNAD代謝とグルコース代謝の双方が関与していることを見出した。次に、GIISの鍵分子である*Kcnj11*のノックアウトにより加齢に伴うGIISの亢進が抑制されることを見出し、実験系としての有用性を明らかにした。最後に、低タンパク質・高炭水化物食が耐糖能を悪化させることなくGIISを抑制することを明らかにし、栄養学的介入による β 細胞の老化制御の可能性を提示した。

以上の知見は、 β 細胞を中心とした個体老化の機序解明ならびに制御法の開発に貢献すると期待される。

文 献

1. Murao N, Yokoi N, Takahashi H, Hayami T, Minami Y, Seino S., Increased glycolysis affects β -cell function and identity in aging and diabetes. *Molecular Metabolism*, 55, 101414, 2022
2. Oduori OS, Murao N, Shimomura K, Takahashi H, Zhang Q, Dou H, Sakai S, Minami K, Chancelon B, Guida C, Kothege L, Tolö J, Maejima Y, Yokoi N, Minami Y, Miki T, Rorsman P, Seino S. Gs/Gq signaling switch in β cells defines incretin effectiveness in diabetes. *J Clin Invest*.130 (12) :140046, 2020
3. Tamarina NA, Roe MW, Philipson LH. Characterization of mice expressing Ins1 gene promoter driven CreERT recombinase for conditional gene deletion in pancreatic β -cells, *Islets*, 6:1, e27685, 2014
4. Hayashi Y, Yamamoto M, Mizoguchi H, Watanabe C, Ito R, Yamamoto S, Sun XY, Murata Y. Mice deficient for glucagon gene-derived peptides display normoglycemia and hyperplasia of islet $\{\alpha\}$ -cells but not of intestinal L-cells. *Mol Endocrinol*. 23 (12) :1990-9. 2009