

研究テーマ

糖尿病発症要因としての糖転移酵素N-acetylglucosaminyl transferase-4aの役割解明

1. 序論 (目的と背景)

助成者のこれまでの研究から糖転移酵素N-acetylglucosaminyl transferase-4a (GnT-IVa、*Mgat4a*遺伝子) が欠損すると膵β細胞のグルコーストランスポーター2 (GLUT2) の糖鎖修飾が不全となりガレクチンとの結合が低下して膜上に留まることが出来なくなり、このため糖を検知できずインスリン分泌が低下し糖尿病状態となることを発見した (図1; Ohtsubo et al. *Cell*, 2005)。助成者はさらに、野生型マウスに高脂肪食を負荷するとβ細胞のGnT-IVaの発現が低下しGLUT2の糖鎖修飾が障害されインスリン分泌不全となること、またヒト*Mgat4a*遺伝子がヒトゲノムの2型糖尿病感受性領域に存在することも確認している。以上の事実はGnT-IVaが糖尿病発症に広く関与する可能性を示している。本研究では、①高脂肪食負荷時のβ細胞でのGnT-IVaの発現低下の分子メカニズムを解明する、②高脂肪食負荷によって誘導されるインスリン分泌不全をGnT-IVaにより回避できるかどうかを動物個体レベルで検証する (図2)。以上から2型糖尿病の発症・進展におけるGnT-IVaの意義を明らかにし、2型糖尿病の新規治療法の開発に繋げることを目的とする。

2. 方法

①高脂肪食負荷時のβ細胞でのGnT-IVa酵素の発現低下の分子メカニズムの解析。

助成者は*Mgat4a* 遺伝子プロモーターのモチーフ解析を行い、*Mgat4a* 遺伝子が膵β細胞の機能維持に必須な転写因子 HNF-1αと Foxa2 により発現調節を受けている可能性を見いだした。そこで高脂肪食負荷時におけるこれら転写因子の発現・転写活性化能を解析し、GnT-IVaの発現調節メカニズムを解明する。

②β細胞特異的GnT-IVa発現マウスにおける、高脂肪食負荷誘導2型糖尿病への抵抗性の解析。

膵臓β細胞特異的GnT-IVa発現マウスでは、高脂肪食負荷によるGnT-IVaの発現低下を回避する事ができ、GLUT2の発現及びインスリン分泌能を維持できるものと期待される。そこで本マウスに高脂肪食を負荷し検証実験を行うことで高脂肪食負荷時でのインスリン分泌能及びグルコース代謝能を解析し2型糖尿病への抵抗性を評価する。

3. 結果 研究成果

①高脂肪食負荷時のβ細胞でのGnT-IVa酵素の発現低下の分子メカニズムの解析。

グルコースセンサーを司るGLUT2とGnT-IVaの遺伝子プロモーター領域には共通してβ細胞の機能維持

図1 糖鎖によるGLUT2の安定化とβ細胞機能維持

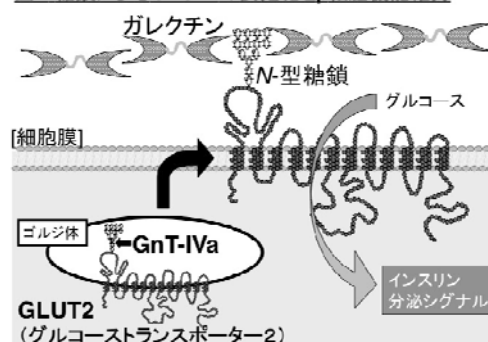
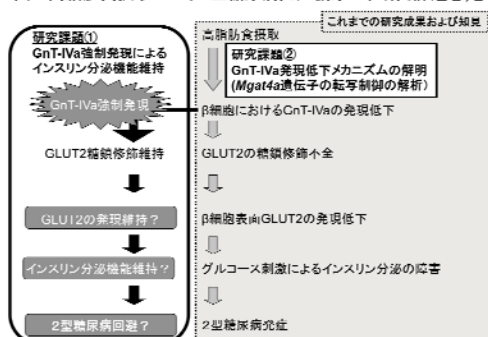
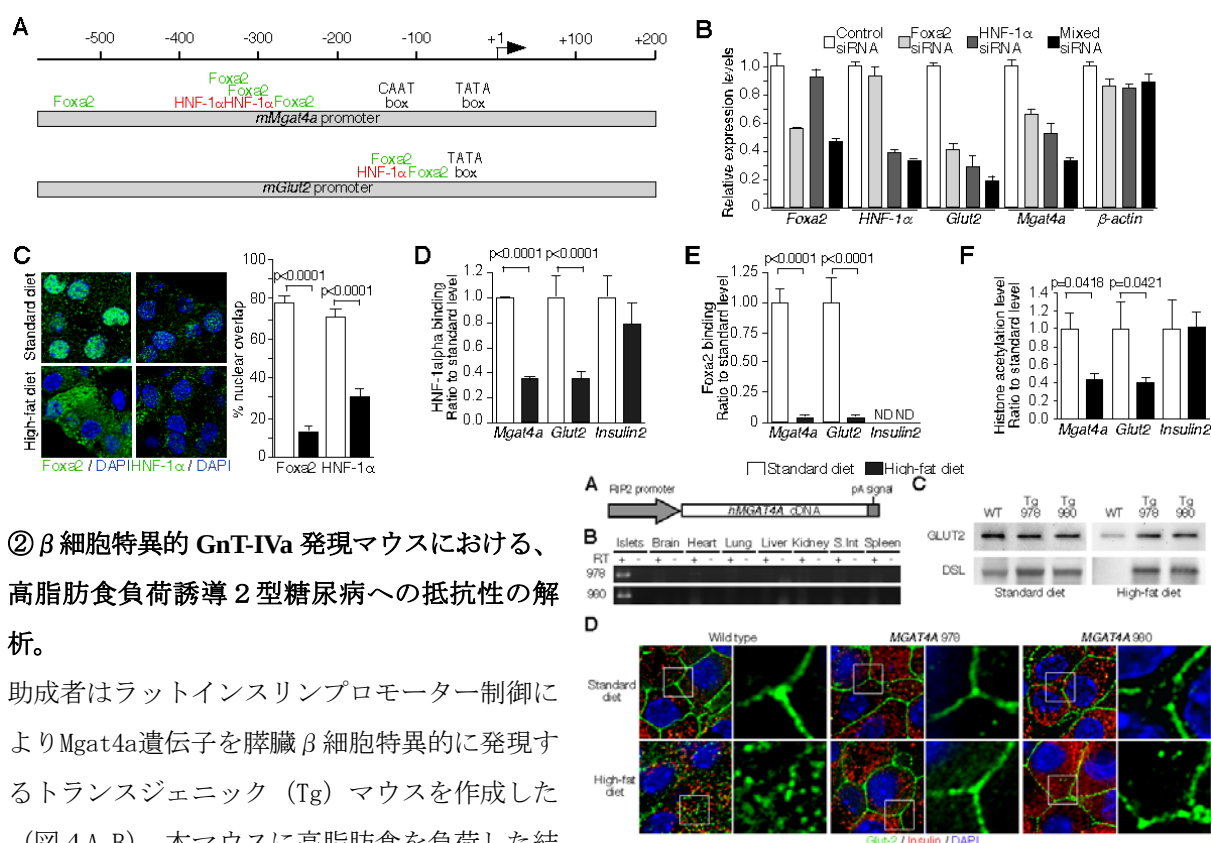


図2 高脂肪食摂取による2型糖尿病発症機序と本研究課題①,②



に不可欠な転写因子Foxa2とHNF-1 α の結合配列が存在する (図 3A)。これら転写因子による遺伝子発現制御を解析するため、単離した膵臓 β 細胞にsiRNAを導入し、遺伝子発現レベルをリアルタイムPCRにより解析した結果、Glut2、Mgat4a遺伝子ともにFoxa2、HNF-1 α の発現制御を受けていることを明らかにした (図 3B)。高脂肪食負荷マウス膵臓の免疫組織染色による解析から、通常核内に存在するこれら転写因子が、高脂肪食負荷により核外に排出されることを明らかにした (図 3C)。クロマチン免疫沈降法により、Glut2、Mgat4aプロモーターへのこれら転写因子の結合を解析した結果、転写因子の核外排出に応じて、結合が低下していることが明らかとなった (図 3D,E)。さらに、ヒストンのアセチルカレベルが低下しており、プロモーター活性が低下していることが明らかとなった (図 3F)。



② β 細胞特異的 GnT-IVa 発現マウスにおける、高脂肪食負荷誘導 2 型糖尿病への抵抗性の解析。

助成者はラットインスリンプロモーター制御によりMgat4a遺伝子を膵臓 β 細胞特異的に発現するトランスジェニック (Tg) マウスを作成した (図 4A, B)。本マウスに高脂肪食を負荷した結果、野生型マウスでは高脂肪食負荷により GLUT2 のタンパクレベルが低下するとともに糖鎖修飾が低下するが、TgマウスではGLUT2の糖鎖修飾が維持されるとともにタンパクレベルが維持された (図 4C)。GLUT2の糖鎖修飾が維持された結果、Tgマウスでは β 細胞表面にGLUT2の発現が維持されていた (図 4D)。高脂肪食負荷後の血糖レベル、インスリンレベルの解析を行った結果、Tgマウスではインスリン分泌レベルが維持されるとともに、血糖レベルも長期間維持されることが明らかになった (図 4E)。高脂肪食負荷Tgマウスにグルコース負荷試験を実施したところ、インスリン分泌応答の維持とともに血糖コントロールが良好であった (図 4F)。

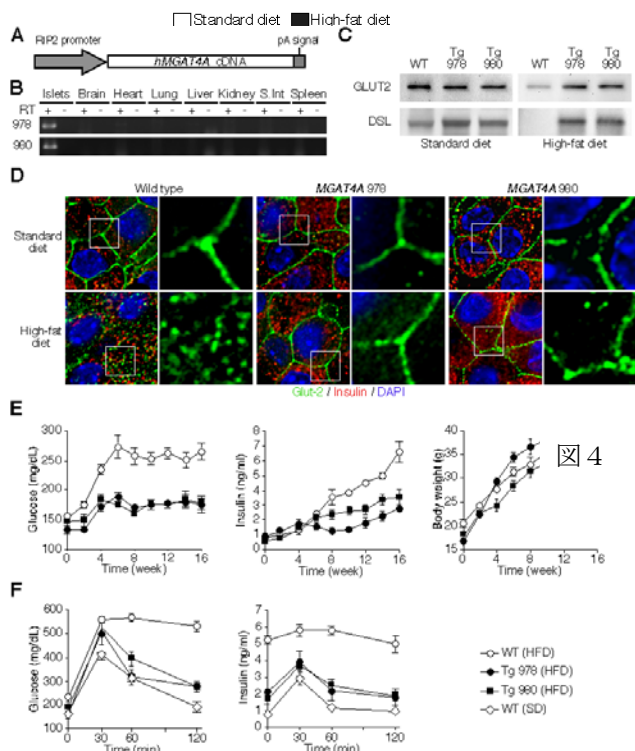


図 4

4. 考察 まとめ

本研究から、高脂肪食負荷による膵臓 β 細胞でのGnT-IVa発現低下が発現制御を行う転写因子 Foxa2, HNF-1 α の核外排出によることを明らかにした。加えて、GnT-IVaを膵臓 β 細胞で高発現することで高脂肪食負荷条件下でも β 細胞の機能が維持でき、結果血糖コントロールが可能となった。この事実は糖転移酵素、及び糖鎖による糖尿病治療の可能性を示唆するものである。