

時計遺伝子 BMAL1 の機能低下に伴う脂肪膵の発生機序の解明と内外分泌機能変化

和田 平

日本大学薬学部 健康衛生学研究室

【研究目的】

肥満者の割合は欧米諸国に比べて極めて低いが、糖尿病の罹患率に関してみるとほぼ変わらない値を示す。これは肥満以外にも「糖尿病発症のリスク因子」が存在することを意味している。余剰な脂肪は、脂肪組織だけでは蓄積できず、肝臓、膵臓などに蓄積する。この”異所性脂肪の蓄積”が、インスリンにより機能制御を受ける肝臓や骨格筋において起こるとインスリン分泌は著しく低下する。一方、インスリンの分泌の場である膵臓における異所性脂肪の蓄積、すなわち脂肪膵の状態ではインスリン分泌能の低下及び細胞の細胞死などが誘発される。興味深いことに国内外の疫学研究から脂肪膵が非肥満者における糖尿病の発症リスクであることが示された。しかしながら、脂肪肝とは異なり、脂肪膵はヒトの病態を体現したモデル動物が確立されていないため、発生機序に関する知見は非常に乏しい。

本研究室では体内時計の主要な制御因子である Brain and Muscle Arnt like protein1 (BMAL1) を欠損させたマウスを解析し、BMAL1 がインスリン分泌及び肝臓などの異所性の脂肪蓄積を制御していることを明らかにした。またマウス成獣期において後天的に Bmal1 遺伝子を欠損させると膵実質細胞が減少し、脂肪細胞が多く集積した脂肪膵が誘導された。本研究では BMAL1 の機能低下に伴う脂肪膵の発生機序及びそれに伴う膵臓機能の変化を明らかにする。

【研究結果および研究経過】

BMAL1 は体内時計制御のみならず、細胞増殖、分化、老化などの反応に関与しているた

め、従来の *Bmal1* 欠損マウスでは成長発達障害の影響を免れることが難しいため、時期特異的に体内時計を変調させることができる薬物(タモキシフェン) 誘導型 BMAL1 欠損(iKO) マウスを作製した。対照群である BMAL1^{flox/flox} マウスにも同様に、タモキシフェンを投与した。その結果、タモキシフェン投与3週後、17週後の iKO マウスの体重、食餌摂取量に大きな違いは見られなかった。組織重量においては、3週後で膵臓重量の著しい減少が見られ、17週後にはその程度が軽減された。そこで膵臓の病理切片を作製し、組織学的に解析したところ、3週後では iKO マウスにおいて膵障害時に見られる病理像である腺房導管化生が認められ、導管マーカーである CK19 の免疫染色(免疫組織化学染色 (IHC) 及び免疫蛍光染色 (IF) による観察及び遺伝子発現量の増加より確認した。また、iKO マウスでは炎症性サイトカインである *Tnfa*、マクロファージマーカーである *F4/80*、線維化マーカーである α SMA などの遺伝子発現量の増加が認められたことから、炎症のみならず線維化が進行していることが示された。一方、17週後の iKO マウスの膵臓切片では、脂肪の蓄積が観察され、脂肪細胞マーカーである Perilipin の免疫染色及びアディポサイトカインである *Leptin*, *Adiponectin* 遺伝子の発現解析より、脂肪の集積は脂肪細胞であることが示された。iKO マウスの腺房細胞が減少し、脂肪細胞が多く集積している。そこで腺房細胞のマーカーであるアミラーゼとペリリピンによる共染色を行ったところ、iKO マウスの脂肪細胞ではアミラーゼの染色は認められなかった。このことから、iKO マウスの膵臓では外分泌機能が低下していることが推察される。現在、更なる解析を進めている(遺伝子発現解析:和田、免疫染色:宮坂)。また、3週後、17週後の血糖値、血清グルカゴン、インスリン濃度において両群間に大きな違いは認められなかったことから、脂肪膵を発症した iKO マウスの内分泌機能への影響は少ないことが示唆された(和田)。また近年、UbiA prenyltransferase domain containing 1 (UBIAD1) などの遺伝子をタモキシフェン誘導 Cre-loxP システムによって後天的に欠損させたマウスにおいて脂肪膵が発症することが報告されている (Nakagawa et al., 2019)。本研究では、BMAL1 を欠損させた iKO マウスの膵臓において脂肪膵の発症が興味深いことに、いずれのマウスもタモキシフェン投与に

より、全身で Cre リコンビナーゼが活性化するシステム (Cre-ER) を用いてマウスが作製されている。これらのことから、遺伝子欠損による影響と独立して、タモキシフェンによって活性化された Cre-ER 依存的に脂肪腫が発症するかについても現在検討している。