



Inhibition of SNAT5 Induces Incretin-Responsive State From Incretin-Unresponsive State in Pancreatic β -cells: Study of β -cell Spheroid Clusters as a Model

Mahira Hashim

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2018-09-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第7291号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1007291>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

学位論文の内容要旨

**Inhibition of SNAT5 Induces Incretin-Responsive State From
Incretin-Unresponsive State in Pancreatic β -Cells: Study of β -Cell
Spheroid Clusters as a Model**

膵 β 細胞における SNAT5 の阻害はインクレチン非応答性状態から、
インクレチン応答性状態へ誘導する: β 細胞スフェロイドクラスターを
モデルとした研究

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻

細胞生理学

(指導教員: 南 康博教授)

玛依热 阿西木

Abstract

β -cell- β -cell interactions are required for normal regulation of insulin secretion. We previously found that formation of spheroid clusters (called K20-SC) from MIN6-K20 clonal β -cells lacking incretin-induced insulin secretion (IIIS) under monolayer culture (called K20-MC) drastically induced incretin-responsiveness. Here we investigated the mechanism by which an incretin unresponsive state transforms to an incretin-responsive state using K20-SC as a model. Glutamate production by glucose through the malate-aspartate shuttle and cAMP signaling, both of which are critical for IIIS, were enhanced in K20-SC. SC formed from β -cells deficient for aspartate aminotransferase 1, a critical enzyme in the malate-aspartate shuttle, exhibited reduced IIIS. Expression of the amino acid transporter SNAT5, which is involved in glutamine transport, was down-regulated in K20-SC and pancreatic islets of normal mice whereas it was up-regulated in K20-MC and islets of rodent models of obesity and diabetes, both of which exhibit impaired IIIS. Inhibition of SNAT5 significantly increased cellular glutamate content and improved IIIS both in islets of these models and in K20-MC. These results suggest that suppression of SNAT5 activity, which results in increased glutamate production, and enhancement of cAMP signaling endow incretin-unresponsive β -cells with incretin-responsiveness.

論文審査の結果の要旨			
受 付 番 号	甲 第 2813 号	氏 名	玛依热 阿西木
論 文 題 目 Title of Dissertation	膵β細胞における SNAT5 の阻害はインクレチン非応答性状態からインクレチン応答性状態へ誘導する：β細胞スフェロイドクラスターをモデルとした研究 Inhibition of SNAT5 Induces Incretin-Responsive State From Incretin-Unresponsive State in Pancreatic β-cells: Study of β-cell Spheroid Clusters as a Model		
審 査 委 員 Examiner	主 査 木 戸 良 明 Chief Examiner 副 査 小 川 渉 Vice-examiner 副 査 橋 本 秀 樹 Vice-examiner		

士課程)

(要旨は1, 000字～2, 000字程度)

【背景と目的】細胞間相互作用は様々な細胞の機能調節に関与していることが知られている。膵β細胞においても、膵島のインスリン分泌反応は単離したβ細胞での分泌反応より良好であることから、細胞間相互作用はインスリン分泌にも重要であると考えられる。これまで我々は、単層培養(MC)ではインクレチン応答性インスリン分泌(IIIS)が認められないマウス膵β細胞株(MIN6-K20)において、スフェロイドクラスター(SC)の形成によりインクレチン応答性が誘導されることを報告してきた。本研究では、SC形成によるインクレチン応答性誘導のメカニズムを明らかにすることを目的とした。

【方法】インクレチン非応答性のマウス膵β細胞株(MIN6-K20)を用いてMCとSCのインスリン分泌、形態学的解析、ATPおよびcAMPの産生、cAMPアナログによるインスリン分泌増強反応およびCREBのリン酸化を比較検討した。また、質量分析計により安定同位体標識グルコースを用いた代謝フラックス解析およびRNA-Seqによる網羅的遺伝子発現解析を行った。インクレチン応答性獲得への関与が疑われる分子SNAT5についてsiRNAを用いたノックダウンや阻害剤処置のインスリン分泌やグルタミン酸含量に及ぼす影響を検討した。最後に、SNAT5の病態生理学的役割を検討するために、肥満モデルob/obマウスおよび肥満糖尿病モデルKK-Ayマウスの膵島を用いてSNAT5の発現量ならびにその阻害によるインスリン分泌を評価した。

【結果】SC形成によりインクレチン応答性が誘導され、SCはMCに比べインスリン分泌顆粒が増加し、ミトコンドリアもよく発達していた。この時グルタミン酸を含む細胞内代謝物、ATP産生およびcAMP産生が増加するのみならずcAMPアナログによるインスリン分泌反応およびCREBのリン酸化も増強していた。IIISはMC、SC、マウス膵島の順により強く、IIISと逆相関する遺伝子発現を示す分子としてアミノ酸トランスポーター(SNAT5)が同定された。SNAT5の阻害によりMCのIIISが誘導され、その際グルタミン酸含量が増加した。IIISが障害されている肥満や糖尿病モデルの膵島ではSNAT5の発現が亢進しており、その阻害によりIIISが改善された。SNAT5はグルタミンの細胞内外への輸送を担っていることが知られる。また、以前に我々は細胞内グルタミン酸はIIISに必須の役割を担うことを報告している。本研究の結果から、SNAT5の発現低下や阻害により細胞内にグルタミンが蓄積し、このグルタミンからグルタミン酸が産生され、IIISを増強するという機序が考えられた。

【結論】SC形成により、インクレチン非応答性β細胞が応答性を獲得する機序には、グルコース代謝、グルタミン酸産生、インクレチン/cAMPシグナルの活性化が伴うが、これにはSNAT5の発現低下が関与することが示唆された。SNAT5の制御機構の解明は、新たな糖尿病治療法開発の礎となるだけでなく、糖尿病や肥満におけるインクレチン応答性不全のより良い理解につながることを期待される。

本研究から、インクレチン非応答性の膵 β 細胞株をスフェロイドクラスター化によってインスリン応答性を誘導するための key molecule であるアミノ酸トランスポーターSNAT5が同定された。SNAT5 の発現を阻害することで、グルタミン酸産生が亢進し、インクレチン応答性が増強することが明らかとなった。肥満モデルマウスでも SNAT5 の発現が亢進しており、今後肥満2型糖尿病のインクレチン応答性低下の機序の解明に繋がり、さらに新たな糖尿病治療薬の開発の基礎メカニズムになりうる重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認められる。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。