

遊離脂肪酸の質が膵臓β細胞のインスリン分泌機能に 与える影響およびその作用機序の解明

Effects and mechanisms of structural differences in free fatty acids
on insulin secretion by pancreatic β-cells

鈴木 真理子
Mariko Suzuki

大妻女子大学大学院 人間文化研究科 健康・栄養科学専攻 博士後期課程

キーワード：膵臓β細胞, 遊離脂肪酸, インスリン分泌
Key words : Pancreatic β-cell, Free fatty acids, Insulin secretion

1. 研究目的

2型糖尿病患者数の増加は世界的な問題となっている。その発症機序には大きく2つ、インスリン分泌機能の低下と、インスリン抵抗性の増加が挙げられ、複雑に相互作用する。これらを増悪させる要因の1つに肥満がある。肥満による長期的な高脂肪酸血の状態は、膵臓β細胞のインスリン分泌に影響を与えて糖尿病の発症・増悪の原因となることが報告されている。具体的には、インスリン分泌機構を障害し分泌の遅れや減弱を引き起こす、細胞死を誘引して分泌細胞量自体を減少させる、などである。

近年、脂肪酸の構造上の違い（炭素鎖長、二重結合など）が、脂肪酸の「質」の違いとして注目されている。飽和脂肪酸であるパルミチン酸 (PA, 16:0) は細胞毒性が強いことが知られ、PAが小胞体ストレスから細胞死を引き起こす機序についても研究が進んでいる。本研究では、飽和脂肪酸であるPAによる膵臓β細胞への影響をその特徴から「小胞体ストレス型」とした。

また、不飽和脂肪酸であるオレイン酸 (OA, 18:1) が、ミトコンドリアのエネルギー代謝を活性化して膵臓β細胞のグルコース感受性を増加させる一方、細胞内活性酸素量も増加させていることを明らかにした。昨年度、過酸化水素 (H₂O₂) を用いた外的酸化ストレスへの耐性について実験を行い、OAが外的酸化ストレスへの耐性を低下させ、それによって細胞死の誘導も早くなることを報告した。OAによる膵臓β細胞への影響を、その特徴から「ミトコンドリア活性型」とした。

そして、PA同様に飽和脂肪酸だが、その健康効果が話題の中鎖脂肪酸のうち、ラウリン酸 (LA, 12:0) が細胞に与える影響を調べたところ、PAのように小胞体ストレスを生じさせる一方、OAのようなミトコンドリアを活性化させている可能性も示されたため、LAは「小胞体ストレス型」と「ミトコンドリア活性型」の特徴を併せ持つ可能性が示唆された。

このように、一口に脂肪酸が細胞に影響する、と言っても、PAは小胞体に、OAはミトコンドリアにというように、それぞれ異なる影響を与えている。これは、脂肪酸の質の違いが異なる作用経路によって膵臓β細胞に影響をおよぼし、それはすなわち、膵臓β細胞に、脂肪酸の質の違いを認識するしくみが存在している可能性が考えられた。

今年度は、脂肪酸の質の違いが膵臓β細胞のインスリン分泌機能および細胞死に与える影響を、マイクロアレイ法を用いた mRNA 解析によって遺伝子変動に与える影響から調べた。特に、血中遊離脂肪酸組成の変化が、膵臓β細胞の機能に与える影響を、主に細胞が脂肪酸の質の違いを認識するしくみから比較検討することを目的とした。

2. 研究実施内容

ラット膵臓β細胞由来 INS-1 細胞を用いた。OA, PA および LA を 0.8% BSA を含む培養培地に 200μM で添加して 1 日間培養した後、Total RNA を抽出し、マイクロアレイ解析を行った。OA, PA, LA 処理細胞での遺伝子発現を Control 細胞とそれぞれ比較し、その発現倍率ならびに発現傾向を比較した。

脂肪酸の質の違いが遺伝子発現に与える影響

今回用いた OA, PA, LA 処理細胞での遺伝子発現を比較したところ、不飽和脂肪酸である OA 処理細胞と、飽和脂肪酸である PA・LA 処理細胞とでその発現傾向に違いが見られた。そのため、本研究では OA 処理細胞での発現倍率および傾向と、PA・LA 処理細胞の発現倍率および傾向とを比較を行った。

脂肪酸受容体への影響

脂肪酸の質の違いを認識するしくみとしてまず考えられるのは、細胞への入口となる受容体である。細胞膜に存在する脂肪酸受容体 (FFAR, free fatty acids receptor) として知られる受容体のうち、FFAR1, 2, 3 (GPR40,43,41) および GPR84 が OA 処理細胞において遺伝子発現が約 1.2~1.5 倍強増加していた。これらの受容体は PA 処理細胞では OA 処理細胞ほどの発現倍率の増加は見せず、LA 処理細胞では発現が低下した。

特に、FFAR1 (GPR40) は、げっ歯類の膵臓 β 細胞に高発現し、インスリン分泌機能の調節への関与の可能性、および、OA との親和性の高さが報告されており、これらの先行研究とは矛盾しない結果を示した。

嗅覚受容体への影響

細胞膜には多くの受容体が存在しているが、本研究において発現遺伝子数が多かったのは嗅覚受容体 (Olfactory receptor, ここではフェロモン受容体 (鋤鼻受容体) vomeronasal receptor も含む) であった。その名の通り、におい成分の受容体だが、そもそも存在する遺伝子数も多く、機能も未知の部分が多い。しかし、その構造は FFAR 同様 G タンパク質共役受容体 (GPCR, G protein-coupled receptor) である。

本解析において、特に OA 処理細胞で 2 倍以上の発現増加を見せた遺伝子が 3 つあり、なかでも Olf1245 は OA 処理細胞での発現倍率が約 2.2 倍増加し、PA・LA 処理細胞との発現倍率の差が最も大きくなった。不明点の多い嗅覚受容体だが、OA との親和性が高い可能性が考えられた。

脂肪酸結合タンパク質への影響

脂肪酸は疎水性の物質であるため、親水性環境である細胞内に進入、移動することは単独では困難である。そのため、脂肪酸と結合して細胞内を移動可能にし、必要箇所へ運搬を考えると考えられるのが脂肪酸結合タンパク質 (FABP, Fatty acid

binding protein) である。

FABP1 では、OA 処理細胞で約 1.25 倍の発現増加が見られた。OA との親和性の高さが報告されているが、PA 処理細胞でも発現増加が見られ、LA 処理細胞でも発現増加傾向にあったため、OA 固有の親和性の高さは示されなかった。PA と親和性が高いとされる FABP5 は、OA 処理細胞で約 0.7 倍に発現が低下した一方、PA 処理細胞では発現増加傾向が見られ、LA 処理細胞では発現が約 1.3 倍弱増加した。

Slc トランスポーターへの影響

細胞膜に存在するトランスポーターも脂肪酸を認識するしくみに一役買っていると考えられる。中でも、FATPs (fatty acid transport proteins) と呼ばれる長鎖脂肪酸輸送に関わる遺伝子に変動が見られた。FATP6 は、OA 処理細胞で約 1.6 倍強の発現増加が見られ、PA・LA 処理細胞でも発現上昇傾向にあった。FATP3 は、OA 処理細胞で約 0.8 倍弱の発現低下が見られ、PA・LA 処理細胞でも発現低下傾向が見られた。この FATP の遺伝子は、OA・PA・LA において、発現倍率の差こそあるものの、発現傾向に関しては近いことが示された。

3. まとめと今後の課題

膵臓 β 細胞に与える影響に異なる特徴をもたらす脂肪酸の質の違いが、遺伝発現の段階からそれぞれ特徴的な影響を与えていることが分かった。不飽和脂肪酸などが膵臓 β 細胞に作用する経路については不明点も多いが、脂肪酸の構造の違いを認識するしくみとして、あらたに嗅覚受容体などの候補が示された。

一方、遺伝子の発現解析のみでは本当に細胞へ影響しているかどうか、といったことは明確ではないため、活性や実際の作用などの確認が必要である。また、今後は、今回判明した遺伝子の抑制実験などを行うことでその影響を確認し、別の種類の脂肪酸を用いることで、さらなる認識機構の解明につなげていきたい。

付記

本研究は大妻女子大学人間生活文化研究所の研究助成 (DA2304) 「遊離脂肪酸の質が膵臓 β 細胞のインスリン分泌機能に与える影響およびその作用機序の解明」を受けたものです。