

最適化した低電圧パルス電流の生体適応応答における分子機構の解明及び新規膵 β 細胞分化誘導法への応用

分子機能薬学専攻 遺伝子機能応用学分野 矢野 脩一朗

極めて低強度の電流刺激は、古くから民間療法として用いられてきた。様々な疾患改善に有用であることが確認されているが、その作用機序について科学的検証はほとんど行われておらず、効果が疑問視されている現状にある。また、これまでに本研究室においても最適化した低電圧パルス電流 (MES) と温熱の併用処理 (MET 処理) は、糖尿病病態改善効果及び予防効果、内臓脂肪の減少、脂肪肝の抑制、さらに肝虚血再還流障害の軽減や胃潰瘍予防にも顕著な作用を示すことを確認しているが、作用メカニズムについては十分な理解は得られていない。そこで、これまでに得られている知見をもとに phosphatidylinositol-3-kinase (PI-3K)/Akt シグナル及びミトコンドリアを介したシグナルに着目し、MES 処理の作用機構解明を行った。

1) PI-3K/Akt シグナルはインスリンシグナルに関わることから糖代謝制御において重要であり、また細胞生存シグナルとしても知られている。そこで、これまでに MES を用いた処理により、糖尿病病態改善効果がみられたこと、並びに肝虚血再還流障害の軽減効果がみられたことから、PI-3K/Akt シグナルに着目し検討を行った。ラット骨格筋細胞株 L6 細胞を用いて検討を行った結果、Akt リン酸化状態を指標とする検討結果から、これまでに本研究室において様々な検討を重ねてきた電流条件が、最も細胞機能に影響を与えることを示した (0.1 millisecond, 55pps)。また、MES 処理により PI-3K 活性化及び PI-3K 活性化依存的な Akt リン酸化亢進が観察された。さらに、インスリンにより誘導される PI-3K/Akt シグナル活性化は、GLUT 4 膜上発現亢進を介した細胞内への糖取り込みを促進することが広く知られているが、MES 処理においても同様の効果がみられた。これらの結果から、MES 処理による PI-3K/Akt シグナル活性化は糖尿病病態改善に寄与していることが考えられる。

ミトコンドリアに低強度のストレスが負荷されると AMPK を介した細胞保護効果が得られる。これまでに、MES を用いた処理により、肝虚血再還流障害の軽減効果、並びに胃潰瘍予防効果がみられたことから、ミトコンドリアを介したシグナルに着目し検討を行った。L6 細胞を用いた検討の結果、MES 処理により細胞死を誘導しない程度の一過性のミトコンドリア膜電位低下がみられ、ミトコンドリア膜電位低下依存的な AMPK リン酸化亢進が起こることも確認できた。さらに興味深いことに、モデ

ル動物線虫を用いた検討において野生型 N_2 線虫を用いた検討では、MES 前処理により、AMPK リン酸化亢進がみられるとともに、温熱及び酸化ストレスに対する耐性が付与されることが確認された。一方で線虫 AMPK ホモログ (AAK-2) 変異体 TG38 線虫では温熱及び酸化ストレスに対する耐性が付与されなかったことから、AMPK 依存的なストレス耐性の付与が確認できた。これらの結果から、MES 処理により一過性のミトコンドリア膜電位低下が引き起こされることで、AMPK を介したストレス耐性が付与されることが明らかになった。

2) 前述したように、MES 処理によるシグナル伝達活性化機構が明らかになったことを受け、MES を用いた処理の ES 細胞から膵前駆細胞 ($Pdx-1^+$ 細胞) への分化誘導における有用性を検討した。膵細胞を含む内胚葉系細胞への分化誘導に関しては、他の胚葉分化研究に比べ分化誘導効率は極めて低く、新たな方法論が強く求められている。そこで、これまでに膵前駆細胞 ($Pdx-1^+$ 細胞) への分化を促進する液性因子 basic fibroblast growth factor と同様に、Akt を MES 処理が活性化することが明らかになったため、ES 細胞から膵 β 細胞への分化誘導における MET 処理の効果を検討した。その結果、MET 処理により ES 細胞から膵前駆細胞 ($Pdx-1^+$ 細胞) への分化が促進されることが明らかになり、この効果は内胚葉細胞における膵前駆細胞 ($Pdx-1^+$ 細胞) の割合を増加させたものであった。さらに興味深いことに、液性因子と MET 処理を併用した場合においても膵前駆細胞 ($Pdx-1^+$ 細胞) への分化促進作用がみられた。これらの結果は、物理的刺激が内胚葉系細胞への分化を促進する事を初めて示すものであり、より効率的な分化誘導法確立が特に求められている膵 β 細胞分化誘導法において重要な知見を提起するものである。

以上、本研究は低強度であるが故に不明確であった微弱な電流による作用機構を、最も細胞機能に影響を与える最適化した電流条件である MES 処理を用いて明らかにした。したがって、抗糖尿病効果や肝虚血再還流障害の軽減などこれまでに MES 処理を用いて有用性が認められていた疾患への積極的適用を促す科学的根拠を提供するものである。さらに膵 β 細胞分化誘導法への応用という MES 処理の新たな可能性を切り拓いた重要な基礎的知見であり、究極的な目標である臨床適用可能な膵 β 細胞分化誘導法開発研究に対し、大いに貢献し得る知見であると考えられる。