

京都ヘルスサイエンス総合研究センター共同研究に係る研究成果
(ホームページ用)

グループ名	発症・治癒機構解明研究		
	(所属)	(職名)	(氏名)
グループ長	京都府立医科大学 大学院医学研究科 細胞生理学	教授	丸中良典
研究組織の体制	京都府立医科大学 京都府立医科大学 京都府立医科大学 京都府立医科大学 京都府立医科大学 京都府立大学 京都薬科大学 京都工芸繊維大学 京都学園大学 京都府立医科大学	教授 教授 教授 教授 教授 助教 教授 教授 教授 教授 特任教授	丸中良典 水野敏樹 山田恵 田中秀央 福井道明 青井渉 芦原英司 Giuseppe Pezzotti 新里直美
研究の名称	2型糖尿病・アルツハイマー型認知症発症における間質液pHの関与とpH制御分子機構の解明		
研究のキーワード(注1)	糖尿病、組織間質液、pH、ラマン分光、		
研究の概要(注2)	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 48%;"> <p>図 1. 組織間質液 pH とインスリンの作用効果. World J Diabetes 6:125-135, 2015.</p> </div> <div style="width: 48%;"> <p>図 2. 組織間質液 pH と神経伝達物質作用の効果. World J Diabetes 6:125-135, 2015.</p> </div> </div>		

	<p>組織間質液（血管外かつ細胞外に存在する体液：Interstitial fluid）はインスリンをはじめとしたホルモンが働く場である（図1）。また、組織間質液pHに関しては今まで報告がなかった。本研究では、記憶に重要な働き脳海馬周囲組織間質液pHが、糖尿病において低下していること、またこのpH低下がインスリン抵抗性を産み出し、結果として高血糖が持続することを見出した。また、組織間質液pH低下は神経活動低下も引き起こす（図2）。</p> <p>糖尿病における脳海馬周囲組織間質液pH低下は神経活動さらに、組織間質液pHを非侵襲的に測定するために、ラマン分光を用いたpH測定法開発にも着手している。</p>
<p>研究の背景</p>	<p>我が国における糖尿病患者は予備群も含めると約2,000万人である。糖尿病の内の多くは2型糖尿病であり、生活習慣に起因するいわゆる「生活習慣病」である。2型糖尿病に対する予防法および有効な治療薬は未だなく、生活指導が現時点では有効な対処法である。2型糖尿病発症における最重要病因はインスリン抵抗性であり、この状態が長く続くと膵β細胞よりのインスリン分泌が持続し、その結果膵β細胞疲弊・破壊が生じてインスリン注射の必要性が起こる。また、診断として現時点では血糖値・HbA1C・インスリン抵抗性指数(HOMA-IR)が測定されている。しかし、早期発見・予防という観点からの正確な診断法がなく、新規糖尿病発症早期発見のバイオマーカーの発見が急務である。さらには、糖尿病患者においてアルツハイマー型認知症発症リスクが高いことも報告されており、糖尿病の早期診断は認知症予防という観点からも重要である。</p>
<p>研究手法</p>	<p>1) 2型糖尿病での組織間質液pH低下の分子機構解明実験 OLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty) ラット (2型糖尿病モデルラット) おいて、血糖値、血圧、血中インスリン活性、血漿アルドステロン値、尿pH・Na⁺・K⁺を測定する対照としては、LETO (Long-Evans Tokushima Otsuka) ラットあるいはWister ラットを用いる。ニードル型アンチモン製pH電極 (Mol Cell Therap 2:6, 2014) を用いてラットの間質液のpHを連続測定する。</p> <p>2) MRIおよびラマン分光を用いた細胞内 H⁺ (pH) / HCO₃⁻ / CO₂ 動態解明 MRIによるT1 relaxation in the rotating frame (T1ρ) 測定による脳内pH測定を試みる。一方、ラマン分光法は励起光を受けた分子が振動し、その分子の振動エネルギーによりシフトしたラマン散光(ラマンシフト)を測定することにより特定の分子を定量することが可能である。1016 cm⁻¹ ラマンシフトはCOO⁻の分子振動であり、HCO₃⁻濃度を計測し得る。1076 cm⁻¹のラマンシフトはC=Oの分子振動によることが分かっているので、CO₂濃度を計測し得る。これらHCO₃⁻濃度およびCO₂濃度測定よりpHを計測することができることとなる。これらの基盤に立脚して我々が開発した共焦点ラマン分光測定を用いることにより、細胞内の特定部位のHCO₃⁻濃度、CO₂濃度およびpHを測定する技術開発を行なう。</p>
<p>研究の進捗状況と成果</p>	<p>糖尿病状態において、脳内海馬（記憶にかかわる部位）周囲組織液pHをアンチモン電極にて測定し、糖尿病でpHが低下していたことが明らかとなった（糖尿病 6.92 ± 0.15 対照群 7.28 ± 0.18; n = 4, 黒いカラムが糖尿病ラット；白抜きカラムが対照ラット： 平均値 ± 標準偏差； p < 0.05: World J Diabetes 6:125-135, 2015）。さらに、非侵襲的ラマン分光を用いて、組織間質液pH測定方法の開発を進めており、一定の成果をあげた（Chemical Physics 463:120-136, 2015）。さらには、健康人、メタボリックシンドローム、糖尿病において、ヒトにおける血清クロライドイオン濃度より、ミトコンドリア活性予測を可能にし体内代謝状態の予後を推定しうることを明らかとした（Internal Medicine (in press)）。</p>

地域への研究成果の還元状況	本研究成果により、糖尿病および認知症の早期発見および予防を行なうことが可能となる。現在進めている非侵襲的組織間質液pH測定法開発をさらに多くの方々に適応可能なものとするにより、一刻でも早く地域の方々への健診レベルでの実施をすべく、鋭意努力中である。
研究成果が4大学連携にもたらす意義	本研究は、1) 京都府立医科大学では生命現象、病態生理を分子・細胞レベルから解明し、個体レベルまで拡げ病める人々への新規治療法の開発研究を展開してきた実績、2) 京都府立大学での栄養生理学・体力医学的研究基盤、3) 京都薬科大学で培ってきた血液データ解析テクノロジー、および4) 京都工芸繊維大学で培ってきたバイオテクノロジーの研究基盤を結集し、体液イオン環境制御機構研究を精力的に行ない、その成果を世界に発信して来た研究代表者を中心に融合させ、京都府発の新規学問概念を世界に発信し、新たなバイオマーカーを世界に認知させることを目指すものである。3法人の研究連携体制の下で、これら研究伝統を有した4大学の研究背景に基づき、本共同研究を推進した。4大学の持つ世界的レベルの異分野での研究能力を融合させることによる新たな学問概念構築を行い、その元に連携4大学の学生を医学・健康科学・薬学・工学を連携させた本研究に参画したことで、京都のヘルスサイエンスがより一層発展し、世界に通じる次世代研究者の育成ができたものと確信する。
研究発表 (注3)	<p>丸中良典 体機能恒常性維持・疾患発症機構における制御因子としてのCl⁻およびH⁺ 第93回日本生理学会大会特別講演（札幌. 2016年3月24日）</p> <p>Pezzotti G, Puppulin L, La Rosa A, Boffelli M, Zhu W, McEntire BJ, Hosogi S, Nakahari T, Marunaka Y Effect of pH and monovalent cations on the Raman spectrum of water: Basics revisited and application to measure concentration gradients at water/solid interface in Si3N4 biomaterial Chemical Physics 463:120-136, 2015</p> <p>Kimura T, Hashimoto Y, Tanaka M, Asano M, Yamazaki M, Oda Y, Toda H, Marunaka Y, Nakamura N, Fukui M Sodium-chloride Difference and Metabolic Syndrome: A Population-based Large-scale Cohort Study Internal Medicine (in press)</p>