

目 次

御挨拶	P02
-----------	-----

研究報告

1 歯科医師 水谷 幸嗣	P04
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科	
2 医 師 福井 健司	P10
大阪大学大学院 医学系研究科	
3 医 師 秋山 優	P16
山口大学大学院医学研究科	

受給者一覧	P23
-------------	-----

選考委員一覧	P25
--------------	-----

ジョスリン糖尿病センターの紹介	P26
-----------------------	-----

サンスター財団の紹介	P27
------------------	-----

金田博夫研究助成基金 募集要項	P28
-----------------------	-----

御挨拶

わが国では、少子高齢化が進行する中、糖尿病をはじめとする生活習慣病対策として、2008年より特定検診制度が開始され、さらに2014年には健康保持増進の為にデータヘルス計画が策定され、国民の健康寿命の延伸が重要な政策課題となっています。

糖尿病につきましては、歯周病が6番目の合併症として捉えられるようになりました。糖尿病患者には歯周病患者が多いことが示され、歯周病治療で血糖コントロールが改善されることがわかってきました。このようなことから、医科歯科連携の構築の重要性が認識されつつあります。

私どもサンスター財団は、糖尿病、歯周病をはじめとする糖尿病合併症の予防・治療を目指した基礎研究ならびに臨床への応用研究を支援するために、歯科分野、医科分野、栄養学分野、生化学分野等の若手研究者を対象として、本財団が指定する海外の大学等研究機関に2年間留学する渡航費、ならびに滞在費を補助する助成事業として、金田博夫研究助成基金を2009年に創設し、すでに8名の若手研究者が留学しています。ここに留学研究成果の一部をご紹介します、糖尿病克服への研究活動の一助になれば幸いです。今後とも新しい研究成果を順次ご紹介してまいりますので、ご支援ご鞭撻の程よろしくお願い申し上げます。

2015年12月

一般財団法人 サンスター財団

理事長 本田孔士

研究報告

1

齒科医師 水谷 幸嗣

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科

2

医師 福井 健司

大阪大学大学院 医学系研究科

3

医師 秋山 優

山口大学大学院医学研究科

歯肉におけるインスリン抵抗性の発現に プロテインキナーゼCおよび酸化ストレスが及ぼす影響

水谷 幸嗣

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 歯周病学分野

金田博夫研究助成基金により Joslin 糖尿病センターへの研究留学を御支援いただきありがとうございました。2010年4月から2012年6月までの2年余りを George L. King 教授のラボで過ごさせていただき、糖尿病合併症の基礎研究に従事させていただきました。

King ラボは、糖尿病合併症の病態である血管障害について研究を行っている。そこで、糖尿病の合併症としての側面も持つと認識され得る歯周病について、インスリン抵抗性という観点からのアプローチで研究を行った。

近年、糖尿病や肥満が歯周病のリスク因子であることが明らかにされ始めており、糖尿病と歯周病との関連メカニズムについては、免疫機能の低下や最終糖化産物 (AGE) の関与などが提唱されているが、肥満との関連については不明な点が多い。肥満は、疫学研究の分析から血糖コントロールや糖尿病とは関係なく、独立して歯周炎との関連が示されており、メタアナリシスでは肥満の成人は歯周炎の発症の確率が1.4倍と報告されている(1)。また、肥満型インスリン抵抗性モデル動物 (Zucker fatty ラット) に歯周炎を人工的に惹起すると、明らかな歯周炎の悪化が見られたことが報告されている(2)。

Genco らは糖尿病と歯周病の関連の疫学研究から、インスリン抵抗性の発現が歯周病の悪化と関連していることを示唆しているが(3)、肥満および糖尿状態にある歯周組織のインスリン抵抗性を定量的に分析した研究は報告されていない。そこで、本研究では前糖尿病段階としてインスリン発現性を生じている肥満モデルのラットを用いることで、歯肉におけるインスリン抵抗性発現の有無と、その発現機序を検討した。

実験には、肥満によるインスリン抵抗性モデルラットの Zucker Fatty (fa/fa : ZF) とその対照の Lean (+/+ : ZL) の12週齢・オスを各18頭用いた。12時間の絶食の後、血糖値、血清中のインスリン、遊離脂肪酸、C反応性タンパク (CRP)、マロンジアルデヒド (MDA) を測定し、腹腔内耐糖能テストを行った。また、下顎臼歯部の辺縁歯肉を採取し、歯槽骨高さをセメント-エナメル境からの距離で評価した。

	体重 (g)	血糖値 (mg/dL)	血清 インスリン (ng/mL)	遊離脂肪酸 (mEq/L)	血清 CRP (ug/ml)	血清マロンジ アルデヒド (uM)
対照ラット (ZL)	333.8 ± 15.0	87.0 ± 5.6	0.43 ± 0.06	0.28 ± 0.05	298.2 ± 45.6	0.78 ± 0.13
肥満ラット (ZF)	528.8 ± 12.2*	97.8 ± 5.0	2.41 ± 0.14*	0.83 ± 0.04*	385.4 ± 83.0*	1.12 ± 0.28*

表1：実験動物の検査結果

その結果、ZF群は有意に高い体重、および血中のインスリン濃度、遊離脂肪酸、CRPを示し、さらに耐糖能の有意な低下が示された(表1)。しかしながら、両群の歯槽骨吸収量に差は見られなかった(図1)。これは、ZFラットでは全体的にはインスリン抵抗性を生じているものの、プラークの蓄積のような歯周炎の原因がなければ歯槽骨吸収のような形態学的な病態が歯周組織に生じていないことを示している。

そこで、インスリン抵抗性を生じた状態での歯周組織局所でのインスリン抵抗性の発現の有無を確認するために、絶食後に採取した下顎臼歯部の辺縁歯肉を、ex vivoにてインスリン刺激(100nM)を行い、Akt、Erk、血管内皮型一酸化窒素合成酵素(eNOS)の活性化レベルによってインスリンシグナリング阻害の評価をウェスタンブロット法に行った。

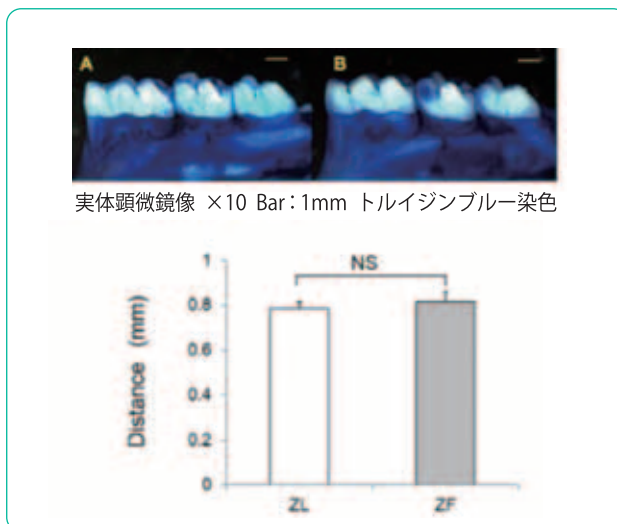


図1: 歯槽骨吸収の計測

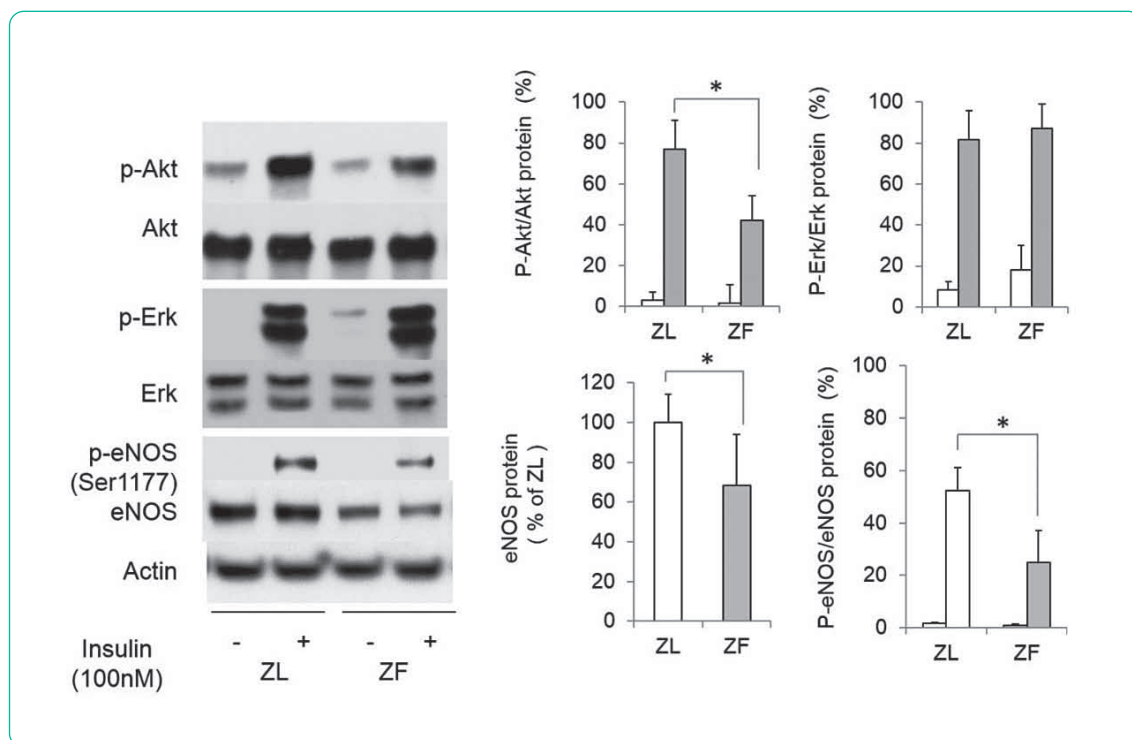


図2: 歯肉へのインスリン刺激によるAkt,Erk,eNOSの影響

すると非常に興味深いことに、eNOS発現量は、ZF歯肉においてZLに比べて有意に低下していた。これはZF群ラットの歯肉において血管透過性や血管新生能が低下していることが示唆される。さらにex vivoでのインスリン刺激により、eNOSとその上流に存在するAktのリン酸化は

ZFにおいて有意に低下していたもののErkは影響を受けていなかった(図2)。つまりインスリンシグナリングのうちPI3-Akt経路のみが選択的に阻害され、MAPK経路は阻害されていないことが示された。

これと同様のインスリンシグナリングの特異的な阻害は、糖尿病性腎症糸球体や糖尿病性網膜症が生じた網膜(4)、脂肪組織(5)内の内皮細胞など、糖尿病合併症による血管障害が起きている部位において示されている。そして、その阻害メカニズムとして局所での炎症やプロテインキナーゼC (PKC) の活性が報告されている(4; 5)。

そこで、採取した歯肉のPKCの活性、およびNF- κ Bの活性、炎症性サイトカイン・酸化ストレスマーカーのmRNA発現を比較した。その結果、歯肉におけるPKC α , $\beta 2$, δ , ϵ はZLに比べてZFにおいて有意な活性化が見られた(図3)。また、ウェスタンブロット法によりNF- κ Bの活性がZF群において有意に高まっていることが示されたため、炎症性サイトカインおよび酸化ストレスマーカーの発現を検索したところ、炎症性サイトカインの発現に差はないものの、酸化ストレスマーカーの発現はZF群で有意に高いレベルであった(図4)。歯肉局所でのPKC活性化および酸化ストレスマーカーの発現の上昇は、表1で示すような高血糖状態および遊離脂肪酸の上昇がもたらしていると過去の報告(5)などからも推測された。

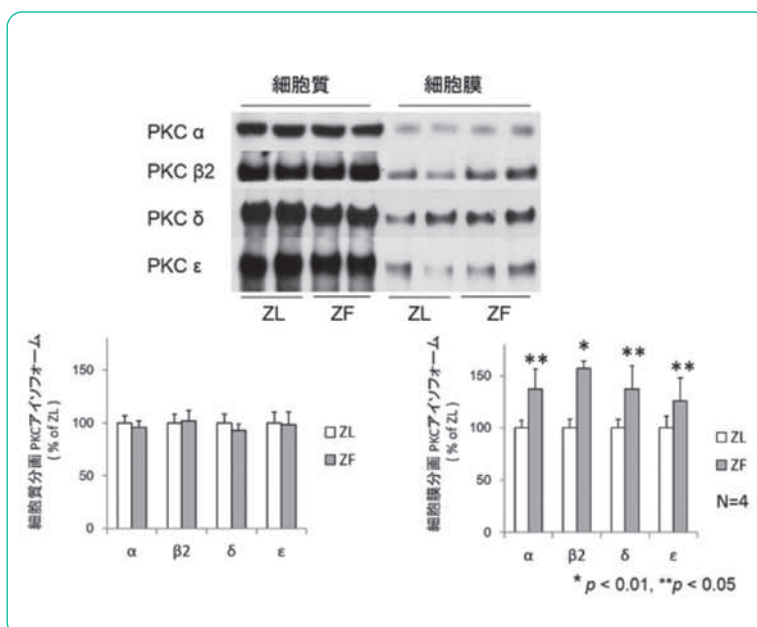


図3：歯肉におけるPKC活性化の比較

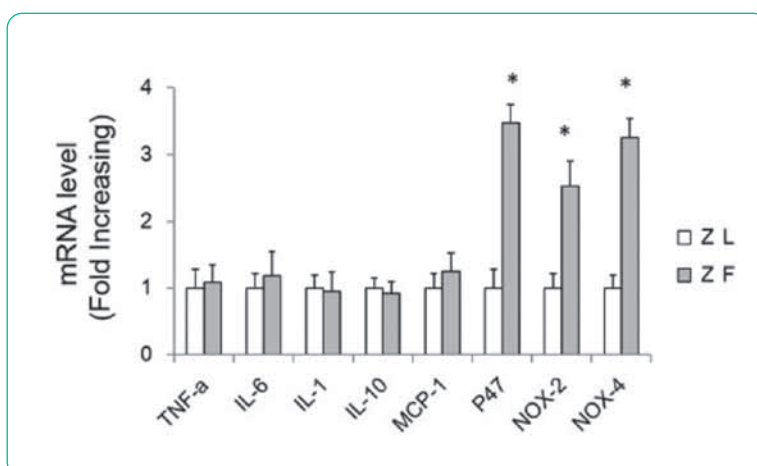


図4：歯肉における炎症性サイトカイン、酸化ストレスマーカーの発現

次に先に行った ex vivo 実験を PKC 阻害薬 (GFX)、抗酸化剤 (ACE) の存在下で再度行った。その結果、Akt、eNOS のリン酸化が一部回復をした。ZF 群で低下していた Akt および eNOS の活性化の改善が見られた (図5)。この一連の結果から肥満によるインスリン抵抗性を生じた前糖尿病段階にあると、PKC 活性化および酸化ストレス亢進が歯周組織局所で生じ、糖尿病合併症を生じる臓器等と同様にインスリン抵抗性が生じることが示された。

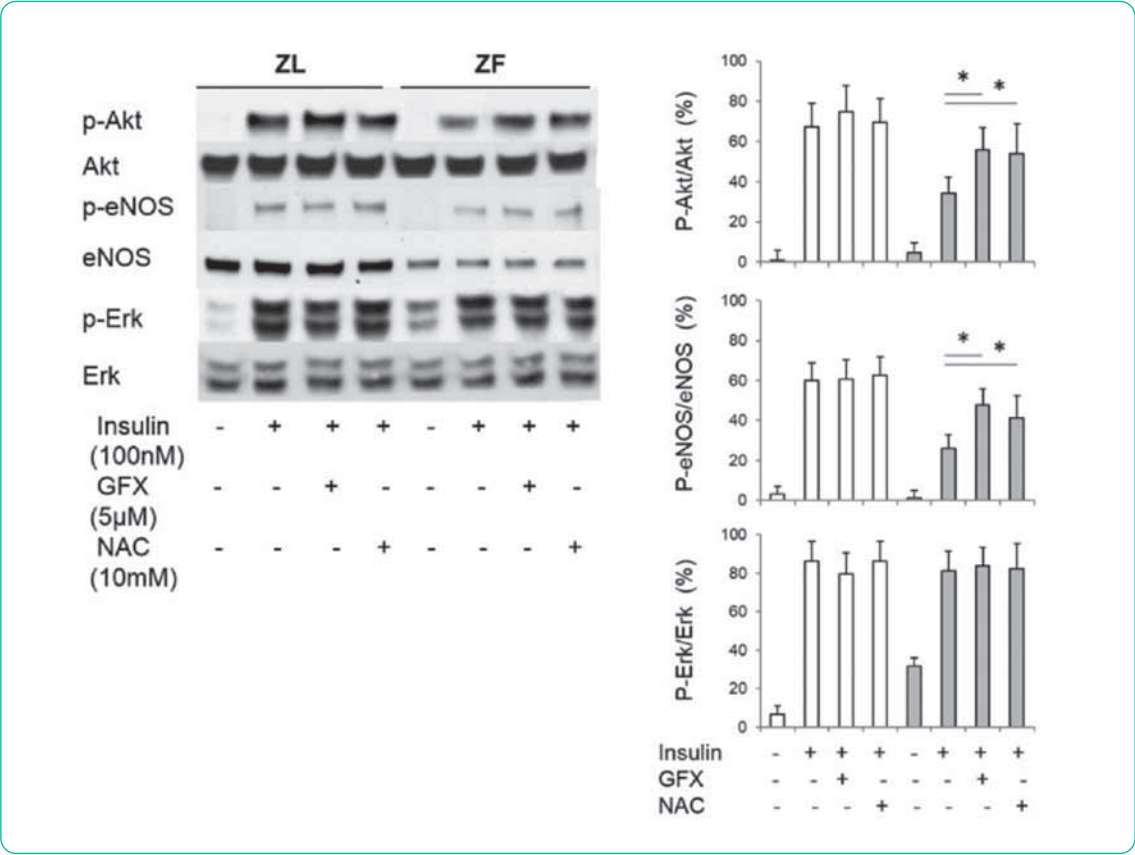


図5：PKC阻害薬(GFX)、抗酸化剤(NAC)添加下におけるインスリン刺激によるAkt、Erk、eNOSの影響

この歯周組織局所での炎症の発現を確認するために、さらにNF-κBEGFPマウスに2か月間、高脂肪食を与え、歯周組織でのNF-κB活性化部位の特定を行った。すると、CD31を特異的に発現する血管内皮細胞と一致しており、このNF-κB活性化が血管において生じていることが明らかにできた (図6)。

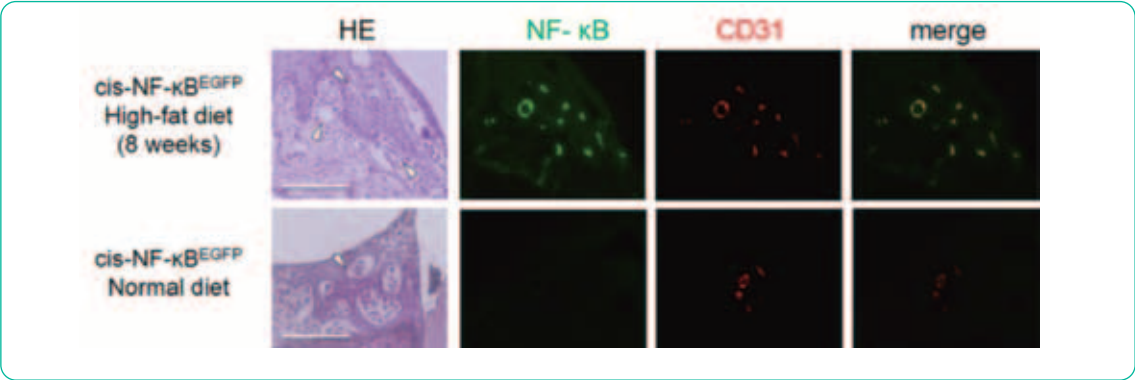
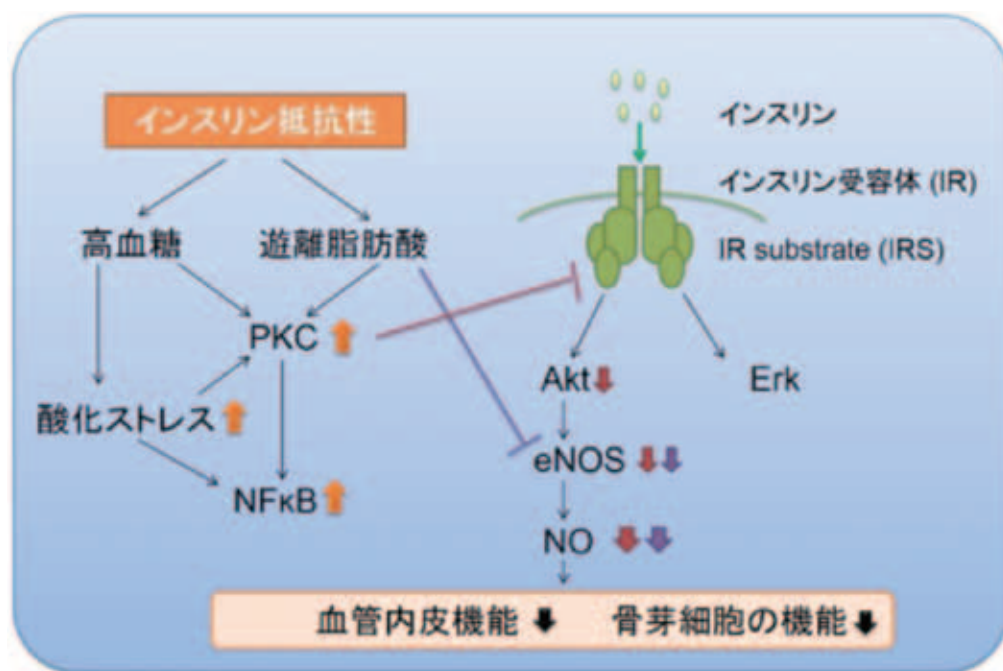


図6

本研究により、初めて歯肉におけるインスリン抵抗性が定量的に分析され、肥満状態での歯肉におけるインスリンシグナルの阻害は血管内皮も含めて生じていることが判明した。そして、その阻害にはPKC活性化および酸化ストレスが関与していることが示唆された。このことは、血管内皮細胞が関わる血管新生や、その後の線維芽細胞および骨芽細胞が関わる創傷治癒の遅延にも影響し得るものであると考察される(図7)。

これまで疫学的に、肥満による前糖尿病状態や糖尿病などで高血糖を呈し、インスリン抵抗性を生じていると、歯周炎が発症しやすく、また増悪しやすいことが示されてきたが、そのメカニズムは十分に解明されていない。本研究結果では、歯周組織破壊の進行や創傷治癒遅延に、他の糖尿病合併症を生じた臓器と同じように血管におけるインスリン抵抗性の発現が関与している可能性を明らかにできた。今後は歯周組織のインスリン抵抗性発現が歯周炎の進行や歯周治療後の組織治癒や再生にどのように影響を与えているかの検討が必要であろう。



最後に、本研究の実施において多大なご支援を頂いたサンスター財団の皆様、Joslin糖尿病センター King ラボの皆様、東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科歯周病学分野の皆様にご礼申し上げます。

※本報告は下記において出版されている

Obesity-associated Gingival Vascular Inflammation and Insulin Resistance.

Mizutani K, Park K, Mima A, Katagiri S, King GL. J Dent Res.;93(6):596-601,2014.

参考文献

1. Chaffee BW, Weston SJ: Association between chronic periodontal disease and obesity: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol* 2010;81:1708-1724
2. Pontes Andersen CC, Flyvbjerg A, Buschard K, Holmstrup P: Periodontitis is associated with aggravation of prediabetes in Zucker fatty rats. *J Periodontol* 2007;78:559-565
3. Genco RJ, Grossi SG, Ho A, Nishimura F, Murayama Y: A proposed model linking inflammation to obesity, diabetes, and periodontal infections. *J Periodontol* 2005;76:2075-2084
4. Mima A, Qi W, Hiraoka-Yamamoto J, Park K, Matsumoto M, Kitada M, Li Q, Mizutani K, Yu E, Shimada T, Lee J, Shoelson SE, Jobin C, Rask-Madsen C, King GL: Retinal not systemic oxidative and inflammatory stress correlated with VEGF expression in rodent models of insulin resistance and diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;
5. Naruse K, Rask-Madsen C, Takahara N, Ha SW, Suzuma K, Way KJ, Jacobs JR, Clermont AC, Ueki K, Ohshiro Y, Zhang J, Goldfine AB, King GL: Activation of vascular protein kinase C-beta inhibits Akt-dependent endothelial nitric oxide synthase function in obesity-associated insulin resistance. *Diabetes* 2006;55:691-698

コレステロール低下に伴う 神経細胞内インスリンシグナルの低下

福井 健司

大阪大学大学院医学系研究科 内分泌・代謝内科、総合地域医療学寄附講座

要 旨

糖尿病モデルマウスの中枢神経ではコレステロールの合成が低下し、神経細胞機能が障害される(1)。この時の神経細胞機能変化を検討するため、マウス視床下部系培養細胞からコレステロールを減少させた際の細胞機能の変化を、インスリンシグナルの変化を中心に検討した。コレステロールの減少した神経細胞内ではインスリンをはじめとする成長因子のシグナル伝達が低下していた。またアミロイド β によるアポトーシスの亢進や、オートファジー機能の障害が見られた(2)。

内 容

(背景と目的)

糖尿病患者においては認知機能障害、アルツハイマー病の発症リスクが高いことが知られているが、そのメカニズムは明らかでない(3,4,5)。糖尿病モデルマウスの中枢神経ではコレステロール合成が低下し、シナプトソームのコレステロール含量が減少することが報告されている。このような神経細胞内のコレステロールの減少が神経細胞機能に与える影響について、インスリンシグナル伝達の変化を中心に検討を行い、さらに細胞内コレステロールの減少がアルツハイマー病発症に影響を与える可能性についても、あわせて検討を行った。

(方法)

細胞内コレステロールの削減は、コレステロールキレート作用のあるmethyl-beta-cyclodextrin(MBCD)、もしくはコレステロール合成経路を抑制するHMGCoA還元酵素(HMGR)阻害剤(simvastatinを使用)の細胞培養培地中への添加、またコレステロール合成経路活性化の上流にあるSREBP2遺伝子のshRNAベクターによるノックダウン、以上の3つの方法をもちいた。

インスリンシグナルの検討は、コレステロールの減少した細胞にインスリン添加バッファーを負荷し10分～30分後に細胞を回収。蛋白抽出をウェスタンブロッティングすることによりインスリンシグナル因子の活性化を検討した。インスリン、及びIGF-1についてはIRS-1、AKT、ERK1/2のリン酸化抗体を、またNGF、BDNFについてはAKT、ERK1/2のリン酸化抗体を用いた。

コレステロール減少に伴うインスリンシグナル伝達の変化における MAPK 経路活性化の詳細な検討のため、その構成要素である Ras については疎水性を付加される prenyl 化、raf と結合する活性化 Ras について検討し、また MEK についてはそのリン酸化抗体を用いたウェスタンブロッティングを用いて活性化を評価した。さらに細胞機能評価のため、アポトーシスについては AnnexinV を用いた検討を、またオートファジーについては LC3-II、p62、ULK-1 などの関連因子の発現の検討を行った。

(結果と考察)

コレステロールの減少に伴いインスリンシグナル伝達は低下する。

MBCD、HMGR 阻害剤、SREBP2 ノックダウン、いずれの方法においても、細胞内コレステロール量は 20~30% の低下を認め、これは糖尿病モデルマウス中枢神経のシナプトソームにおけるコレステロール減少と同程度であった。

このときインスリン刺激後の IRS-1 活性化、AKT 活性化は低下した。ERK1/2 活性化は、MBCD および HMGR 阻害剤処理においては、IRS-1 や AKT と同様低下していたが、SREBP2 ノックダウンにおいてのみ上昇を認めた。

コレステロール減少は IGF-1、NGF、BDNF シグナル伝達も抑制する。

インスリンレセプターに対する交差活性を有し、インスリンシグナル活性化をもたらす IGF-1 を用いて、上記の 3 方法でコレステロールを低減した細胞を刺激したところ、インスリン刺激と同様に IRS-1、AKT、ERK1/2 活性化は全体に減弱を認めたが、SREBP2 ノックダウンにおける ERK1/2 活性化のみ増強を認めた。神経成長作用を持つ NGF、BDNF はそれぞれシグナル伝達経路ののちに AKT、ERK を活性化するが、これらによる刺激においても同様に、SREBP2 ノックダウンにおける ERK1/2 活性化を除き、細胞内コレステロールの減少によりシグナル経路の活性化は減弱を認めた。

SREBP2 ノックダウンは ERK1/2 活性化を増大させる。

上述のように、細胞内コレステロールの削減によりインスリンシグナル経路の活性化は抑制されたが、SREBP2 発現抑制時における ERK1/2 活性化のみ、コレステロール低減時に増加していた。このメカニズム解明のため、ERK1/2 活性化にいたる MAPK 経路についてさらに詳しく検討を行った。

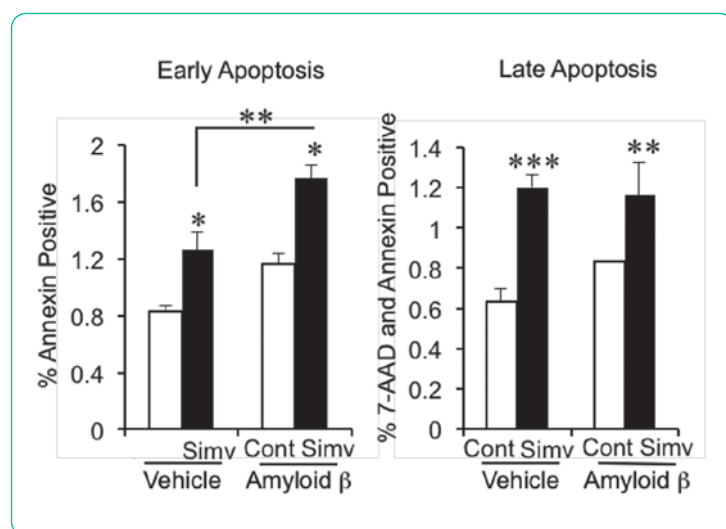
MAPK経路を構成する、Rasは、インスリンにより疎水性をもつprenyl基を付加され、細胞膜に移行しシグナル伝達に寄与する。Rasの発現量はコレステロール減少にともなう変化はなかったが、コレステロール削減方法にかかわらず、prenyl化を受け細胞膜上に局在するRasは低下し、またインスリン刺激後の活性化Ras自体も減少していた。またErk1/2活性化反応を直接媒介する活性化Mekも同様に、コレステロール減少に伴い、その削減方法にかかわらず低下していた。

これらの結果より、細胞内コレステロールの減少にともない、インスリンIGF-1および、NGF、BDNFなどの神経成長因子のシグナル伝達は抑制を受けるが、SREBP2発現低下により、活性型Erk1/2を脱リン酸化する機構が障害されている可能性が考えられた。

コレステロールの減少した神経細胞において Amyloid β による apoptosis は亢進する。

次にコレステロール減少に伴う成長因子シグナルの低下が神経細胞の生存能力に与える影響について、とくに神経変性疾患であるアルツハイマー病における神経細胞死への関与についての検討を行った。

アルツハイマーによる中枢神経細胞障害は、アミロイド β の蓄積やそれにとまなう細胞死が原因と考えられている(6)。そこで培養液中にアミロイド β を添加し、AnnexinVおよび7-Amino-Actinomycin Dをもちいてアポトーシスを評価した。その結果、コレステロールを減少させたGT1-7細胞においては通常培養時のアポトーシスに増加傾向を認め、アミロイド β 添加後のアポトーシスは有意に増加していた。また血清非添加培養における活性型カスパーゼ3発現、すなわちアポトーシス誘導も、コレステロールの減少したGT1-7細胞において上昇していた。これらの結果より、コレステロールの減少に伴い、神経細胞のストレス下での生存能力は低下し、アミロイド β による細胞障害も受けやすいことが示唆された。

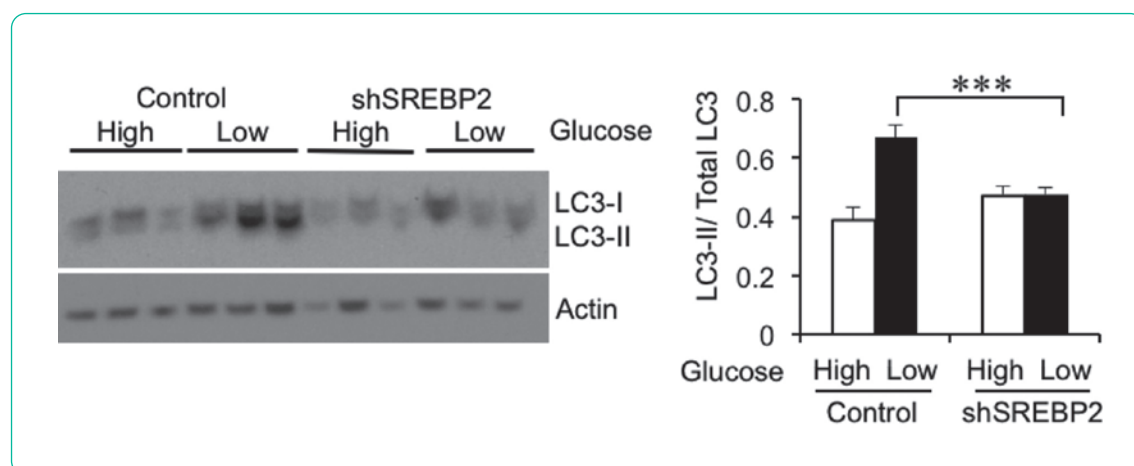


(図1) コレステロールの減少したGT1-7細胞(simv: simvastatin添加)では、アポトーシス状態の亢進(負荷前のAnnexin、7-AADの上昇)を認め、amyloid β 負荷による早期アポトーシス誘導(Annexinの上昇)が上昇していた。

神経細胞のコレステロール減少にともないautophagy機能は障害される。

オートファジーは細胞の飢餓状態におけるエネルギー確保のメカニズムとして発見され、また不要な物質や異常蛋白の分解・代謝をおこなう働きも持つことが報告されている(7)。アルツハイマー病への関与についても、オートファジーはアルツハイマー病発症の原因物質の一つであるアミロイド β のクリアランスに関わり、オートファジー機能の障害によりアミロイド β が蓄積することが報告されている(8)。コレステロール減少にともなうオートファジー機能の変化についても検討をおこなった。

GT1-7細胞を低グルコース濃度で培養すると、オートファゴソームの形成成分であるLC3-II蛋白の増加を認めるが、コレステロールの減少したGT1-7細胞において、LC3-II蛋白は、通常培養状態で増加傾向を示しながらも、低グルコース状態における発現量増加が見られなかった。オートファジー機構の開始を制御するULK-1、ユビキチン化された蛋白をオートファゴソームに誘導するp62蛋白も、通常状態における奇異的な増加、低栄養時の発現増加の抑制などの傾向が見られた。これらの結果、神経細胞内コレステロール低下にともない、オートファジー機能は障害され、低栄養時のエネルギー確保および不要物質のクリアランスが障害されている可能性が示された。



(図2) コレステロールの低下したGT1-7細胞細胞(shSREBP2: SREBP2ノックダウン)では、平常時(High: 高グルコース濃度)から低栄養(Low: 低グルコース濃度)にしたときのオートファゴソーム形成(LC3-II: 下のバンドの比率の増加)が障害されている。

まとめ

本研究において、糖尿病モデル動物に見られる中枢神経細胞内コレステロールの低下はインスリンシグナル伝達を障害し、細胞のストレス反応の脆弱化や、細胞内の代謝障害および不要蛋白の蓄積を惹起することが細胞実験において示された。近年アルツハイマー病発症における中枢神経でのインスリン抵抗性の関与が報告されており(9,10)、糖尿病患者の中枢神経細胞にいても本研究の細胞実験結果と同様に、インスリンシグナル伝達の低下によるオートファジー機能障害やアミロイド β などの異常蓄積が、神経細胞障害に寄与している可能性が考えられる。

結果

中枢神経細胞内コレステロールのインスリンシグナル伝達機能における役割について検討した。細胞内コレステロールの減少に伴い、インスリンシグナル伝達は障害され、細胞増殖能、生存能、エネルギー代謝調節などの細胞機能低下を生じた。これらの機能低下は糖尿病患者におけるアルツハイマー病などの中枢神経疾患のリスク増大に關与する可能性が考えられる。

引用文献

1. Suzuki R. et al. (2010) Diabetes and insulin in regulation of brain cholesterol metabolism. *Cell Metab* 12, 567-579
2. Fukui K, et al. (2015) Effect of Cholesterol Reduction on Receptor Signaling in Neurons. *J Biol Chem*. 2015 Sep 14. [Epub ahead of print]
3. Biessels G. J. et al. (2008) Cognition and diabetes: a lifespan perspective. *Lancet Neurol* 7, 184-190
4. Cukierman T. et al. (2005) Cognitive decline and dementia in diabetes--systematic overview of prospective observational studies. *Diabetologia* 48, 2460-2469
5. Craft S., and Watson G. S. (2004) Insulin and neurodegenerative disease: shared and specific mechanisms. *Lancet Neurol* 3, 169-178
6. Selkoe D. J. (2001) Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev* 81, 741-766
7. Mizushima N., and Komatsu M. (2011) Autophagy: renovation of cells and tissues. *Cell* 147, 728-741
8. Tung Y. T. et al. (2012) Autophagy: a double-edged sword in Alzheimer's disease. *Journal of biosciences* 37, 157-165
9. Talbot K. et al. (2012) Demonstrated brain insulin resistance in Alzheimer's disease patients is associated with IGF-1 resistance, IRS-1 dysregulation, and cognitive decline. *J.Clin.Invest* 122, 1316-1338
10. Bomfim T. R. et al. (2012) An anti-diabetes agent protects the mouse brain from defective insulin signaling caused by Alzheimer's disease- associated Abeta oligomers. *J.Clin.Invest* 122, 1339-1353

発表業績一覧

論文

Effect of Cholesterol Reduction on Receptor Signaling in Neurons.

Fukui K, Ferris HA, Kahn CR.

J Biol Chem. 2015 Sep 14. [Epub ahead of print]

学会発表

72nd scientific session of American Diabetes Association, June8-12, 2012 Philadelphia, Pennsylvania, USA

Kenji Fukui, C. Ronald Kahn

“Role of Cholesterol in Neuronal Cell Function in Diabetes”

第57回日本糖尿病学会 年次学術集会、2014年5月23～25日 大阪

福井健司、今川彰久、Kahn CR、下村伊一郎

「細胞内コレステロール含量低下に伴う神経細胞機能変化」

第5回泉州地域医療フォーラム、2014年10月4日 大阪

福井健司

「糖尿病と中枢神経細胞機能」

Meet The Expert Conference、2014年11月7日 大阪

福井健司

「糖尿病と中枢神経細胞機能」

第58回日本糖尿病学会 年次学術集会、2014年5月21～24日 下関

「細胞内コレステロール低下による神経細胞インスリンシグナルの変化」

福井健司、今川彰久、Kahn CR、下村伊一郎

特許出願 なし

グルカゴン分泌・糖代謝を正常に保つための膵 α 細胞における小胞体機能の重要性

- α 細胞特異的 X-box binding protein 1 (XBP1) 欠損モデルを用いた解析 -

秋山 優

山口大学大学院医学系研究科・医学部 病態制御内科学(第三内科)

要旨

2型糖尿病患者では高血糖状態が存在するにも関わらず、しばしば高グルカゴン血症を認めることが報告されてきた。このメカニズムは不明であるが、2型糖尿病患者では β 細胞のみならず α 細胞機能の障害を有することが示唆される。近年、2型糖尿病患者において小胞体ストレス・小胞体ストレス応答障害が β 細胞機能障害を惹起する因子として関与していることが明らかになってきた。しかし、 α 細胞における小胞体ストレス・小胞体ストレス応答障害の影響については不明である。X-box binding protein 1 (XBP1) は小胞体ストレス応答において重要な役割をもつ転写因子であり、これまでに β 細胞特異的XBP1欠損マウスはインスリン分泌が障害され、耐糖能異常を来すことが報告されている。今回、我々は α 細胞における小胞体ストレスの影響を調べるため、 α 細胞特異的XBP1欠損(α XBPKO)マウスを作成した。また細胞レベルでのより詳細なメカニズムについて検討するため膵 α 細胞株である α TC6細胞を用いてXBP1ノックダウン α TC6(α XBPKD)細胞も作成した。興味深いことに α XBPKOマウスは高血糖状況下でのグルカゴン分泌抑制が認められず、その結果、耐糖能異常を来した。また α XBPKOマウスの膵 α 細胞では小胞体の著しい拡張を認め、小胞体ストレスが惹起されていることが示唆された。 α XBPKD細胞を用いたXBP1欠損状態での小胞体ストレス応答シグナルの検討では、XBP1活性化の役割をもつinositol-requiring enzyme 1 (IRE1)の活性化が認められた。その結果、 α XBPKD細胞ではJun NH2-terminal kinase (JNK)の活性化を介したインスリンシグナル障害が惹起され、高血糖状態下でのインスリンによるグルカゴン分泌抑制メカニズム障害が惹起されていた。これは α XBPKOマウスで得られた結果と矛盾しないものである。これらの結果は膵 α 細胞における小胞体ストレス、もしくは小胞体ストレス応答異常がインスリンシグナル障害を介したグルカゴン分泌調節不全の原因となり、結果的に耐糖能異常を来すことを示唆するものである。また同時に糖代謝を正常に保つ上で α 細胞の小胞体機能の重要性を示唆するものである。

内容 (背景・方法)

2型糖尿病患者では膵 β 細胞機能障害・細胞量の減少によるインスリン作用不足に加え、グルカゴン分泌が亢進していることも報告されており[1]、過剰なグルカゴン分泌もまた高血糖を助長する一因となっている。これは2型糖尿病患者において β 細胞のみならず α 細胞機能障害も存在することを示唆するものである。 α 細胞からのグルカゴン分泌を調節する因子としてはグルコースに加え α 細胞におけるインスリンシグナルが重要であることが報告されている[2]。同時に α 細胞におけるインスリンシグナル障害はグルカゴン過剰分泌を誘導し、その結果、耐糖能異常をきたす[2]。

近年、2型糖尿病患者において小胞体ストレスが β 細胞機能障害・細胞量減少を誘導する因子として関与していることが明らかになってきたが[3] [4]、 α 細胞における小胞体ストレス・小胞体ストレス応答障害の影響については不明であった。小胞体ストレスに対して生体内では小胞体ストレス応答(unfolded protein response: UPR)により対処する。小胞体ストレスを感知する蛋白質の一つであるinositol-requiring enzyme 1 (IRE1)は転写因子であるX-box binding protein 1 (XBP1)を活性化することで分泌蛋白のフォールディングや輸送を担う小胞体シャペロン遺伝子の発現誘導を惹起し、結果的に小胞体ストレスを軽減する。つまりXBP1は小胞体ストレス応答において重要な役割をもつ転写因子であり、これまでに β 細胞特異的XBP1欠損マウスは β 細胞機能障害の結果、インスリン分泌が障害され、耐糖能異常を来することが報告されている[5]。

今回、我々は α 細胞における小胞体ストレスの影響を調べるため、 α 細胞特異的XBP1欠損(α XBPKO)マウス、またin vitroモデルとしてXBP1ノックダウン α 細胞株を作成した。 α XBPKOマウスはXbp1floxマウス[5]とグルカゴン-Creマウス[2]を交配することで作成した。XBP1ノックダウン α 細胞株はマウスXBP1 short hairpin RNA (shRNA)をレンチウイルスベクター(Open Biosystemsから購入)を用いて α TC6細胞株に導入することで作成した。in vivo実験として α XBPKOマウスの耐糖能検査、グルカゴン分泌を測定し、 α 細胞でのXBP1欠損が糖代謝に与える影響について検討した。また組織学的検査、電子顕微鏡を用いた解析にてXBP1欠損が α 細胞の生存に与える影響、また小胞体を含めた細胞内小器官の変化について検討した。in vitro実験としてはUPR、インスリンシグナルに関わる蛋白質の発現についてSDS-PAGE、ウェスタンブロッティングにより検討した。

結果

α 細胞特異的なXBP1欠損はグルカゴン分泌調節不全による耐糖能異常、インスリン抵抗性の原因となる。 α XBPKOマウスの体重、随時血糖値・インスリン・グルカゴン値は野生型マウスと比較し差は認めなかった(Fig. 1A-D)。しかし、 α XBPKOマウスは耐糖能異常(Fig. 1E)、インスリン抵抗性(Fig. 1F)を示した。この時、腹腔内グルコース負荷により野生型マウスでは有意なグルカゴン分泌抑制が認められたのに対し、 α XBPKOマウスではグルカゴン分泌抑制が認められなかった(Fig. 1G)。インスリン分泌に関しては違いを認めなかった(Fig. 1H)。次に、単離ラ氏島を用いてグルカゴン・インスリン分泌について検討した。in vivo実験の結果と同様に野生型マウスの単離ラ氏島では高グルコース濃度の状況下(16.7 mmol/L)にてグルカゴン分泌は抑制されたが、 α XBPKOマウスの単離ラ氏島ではグルカゴン分泌は抑制されなかった(Fig. 1I)。尚、インスリン分泌や単離ラ氏島のインスリン・グルカゴン含量については両者に差は認められなかった(Fig. 1J-L)。これらの結果は、 α 細胞でのXBP1欠損はグルカゴン分泌調節不全によりグルコースホメオスタシスの異常につながることを示唆するものである。

膵 α 細胞でのXBP1欠損は小胞体ストレスの原因となるがラ氏島の構造には影響を与えない。 α XBPKOマウスの膵ラ氏島を組織学的に検討したが、野生型マウスのラ氏島構造と変化はなく、正常な構造であった(Fig. 2A, B)。 α 細胞のアポトーシスについて検討するため、TUNEL染色も施行したが α XBPKOマウスと野生型マウスに差は認めなかった(data not shown)。次に α 細胞で

Fig. 1.

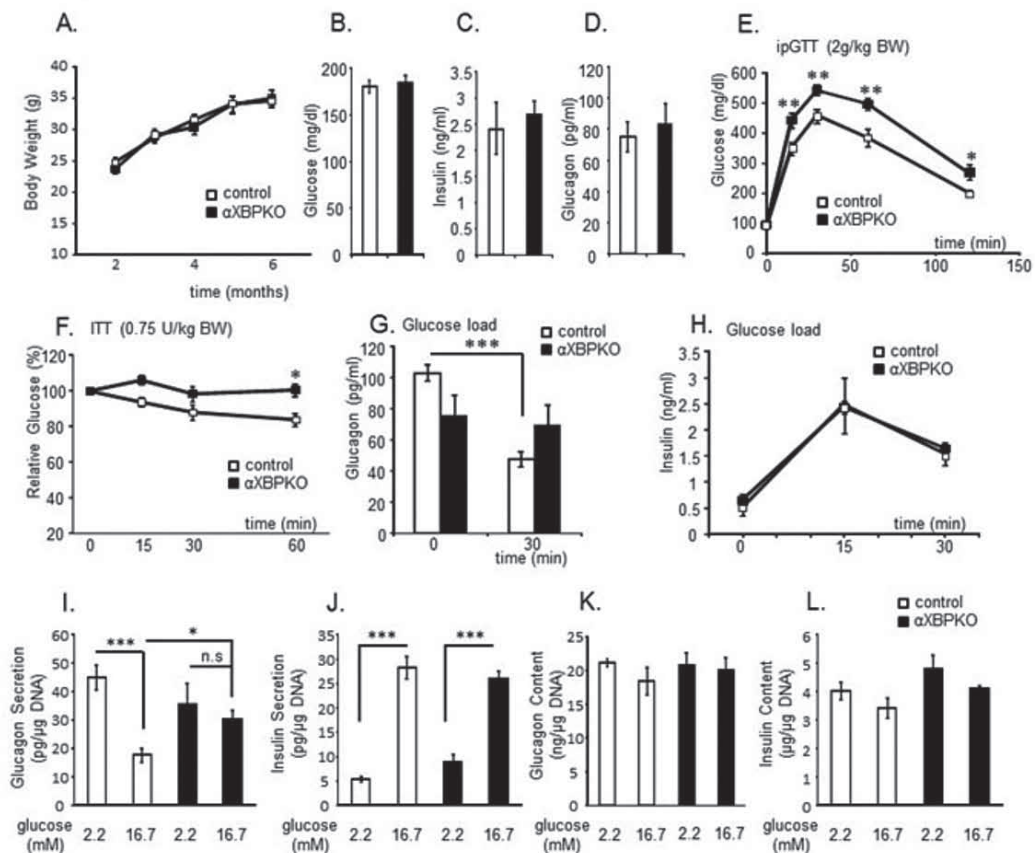


Figure 1. α 細胞特異的XBP1欠損は耐糖能異常、インスリン抵抗性、高グルカゴン血症を惹起する
(A) Body weights. $n = 6-10$ in each group. (B) Non-fasting blood glucose, (C) Non-fasting insulin, and (D) non-fasting glucagon in 6-month-old male mice. $n = 6$ in each group. (E) Intraperitoneal glucose tolerance (glucose 2 g/kg bw) in 6-month-old male mice. $n = 6$ in each group. (F) Whole-body insulin sensitivity (insulin 0.75 U/kg bw) in 6-month-old male mice. $n = 7-11$ in each group. (G) Plasma glucagon levels before and after intraperitoneal glucose injection (glucose 2 g/kg bw) in 6-month-old male mice. $n = 7$ in each group. (H) Plasma insulin levels before and after intraperitoneal glucose injection (glucose 2 g/kg bw) in 6-month-old male mice. $n = 7$ in each group. (I) Glucagon, and (J) Insulin secretion from islets were expressed per μ g of total DNA. $n = 3-4$ in each group. (K) Total glucagon, and (L) total insulin content of islets expressed per μ g of total DNA, $n = 3-4$ in each group.
Control, empty box; α XBPKO, filled box. Data are expressed as means \pm SEM; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, and n.s., not significant; control versus α XBPKO.

のXBP1欠損が小胞体ストレスの原因となっている可能性について検討するため、電子顕微鏡を用いて細胞内小器官の構造を調べた。その結果、 α XBPKOマウスでは約70%の α 細胞において野生型マウスと比較し、小胞体は著しく拡張・膨化していた (Fig. 2C, D)。これらの結果は α XBPKOマウスの α 細胞では小胞体ストレスが誘導されていることを示唆するものである。

XBP1欠損はIRE1 α リン酸化(活性化)とJNKの活性化を誘導する。

α 細胞におけるXBP1欠損がグルカゴン分泌調節不全を誘導するメカニズムについて検討するため、XBP1ノックダウン α TC6細胞株(α XBP1KD細胞)を作成した。ノックダウンの効率はウエスタンブロッティングにより検討した。 α XBPKD細胞では小胞体ストレスを誘導するタブシガルジン処理した後の活性型XBP1であるspliced XBP1 (XBP1s)の発現はコントロールと比較し85%減少していた (Fig. 3A)。

Fig. 2.

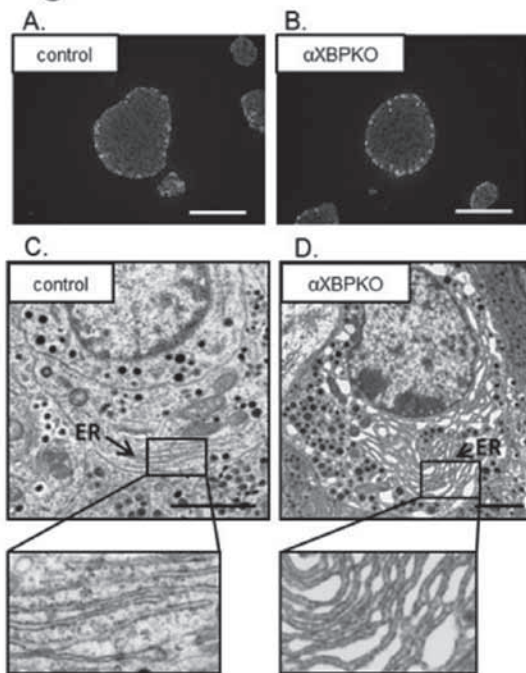


Figure 2. α 細胞特異的XBP1欠損は小胞体ストレスを誘導するが細胞死にはつながらない
Immunofluorescence staining (shown by gray scale) for insulin, glucagon and somatostatin of pancreatic sections from control mice (A) and α XBPKO mice (B) at 6 months of age, scale bar 200 μ m.
Ultrastructural analysis of pancreatic α -cells using electron microscopy was performed on islets from control (C) and α XBPKO (D) mice at 6 months of age, scale bar 2 μ m.

次にUPRに関連する蛋白の発現についてウェスタンブロッティングにより検討した。その結果、XBP1sの下流のターゲットであるBiPの発現は α XBPKO細胞で減少していた (Fig. 3B, C)。しかし、XBP1の上流にありXBP1の活性化の役割を担うpIRE1 α の発現は亢進していた (Fig. 3B, C)。これらの結果は α 細胞においても、これまでに報告されている β 細胞同様に[5]、XBP1とIRE1 α の間にフィードバックメカニズムによる調節機構が存在することを示すものである。その他のUPRのマーカーとしては α XBPKO細胞ではATF6の活性化は亢進し、pPERKは減少していた (Fig. 3A-C)。これまでに小胞体ストレスがJNKの活性化を誘導することが報告されているため[6]、 α XBPKO細胞におけるpJNKの発現について検討した。その結果、 α XBPKO細胞ではコントロールと比較し、pJNKの発現は亢進していた (Fig. 3B, C)。従って、これらの結果より α 細胞においても、他の細胞同様にXBP1欠損はIRE1 α の活性化とJNKの活性化を誘導することが示された。

XBP1欠損はインスリンシグナル障害・インスリンによるグルカゴン分泌抑制の障害を来す。次にJNKの活性化がインスリンシグナルに与える影響について検討した。IRS1のセリンリン酸化はIRS1シグナルに抑制的に働くことが報告されているが[7]、 α XBPKO細胞ではIRS1のセリンリン酸化がコントロール細胞と比較して亢進していた (Fig. 4A, B)。対照的にIRS1シグナルに促進的に働くIRS1チロシンリン酸化は α XBPKO細胞で減少していた。最終的に α XBPKO細胞におけるAktのスレオニン・セリンリン酸化は共に顕著に減少していた (Fig. 4A, B)。

α 細胞におけるインスリンシグナル障害はグルカゴン分泌促進的に働くことから[2]、ここで α XBPKO細胞ではインスリンによるグルカゴン分泌抑制が障害されていると考えた。この仮説を証明するため α XBPKO細胞からのグルカゴン分泌について検討した。まずコントロール細胞からのグルカゴン分泌は0.5もしくは25 mmol/Lグルコース濃度と比較し、5.5 mmol/Lのグルコース濃度で最も低値であった (Fig. 4C)。また25 mmol/Lの高グルコース濃度の状況下ではインスリンによりグルカゴン分泌が抑制された (Fig. 4C)。これらの結果は過去の報告と同様であった[8] [9]。しかしながら α XBPKO細胞では高グルコース状況下でのインスリンによるグルカゴン分泌抑制は認められなかった (Fig. 4C)。

α XBPKOマウスでの結果と併せて、これらの結果は α 細胞でのXBP1欠損はインスリンシグ

Fig. 3.

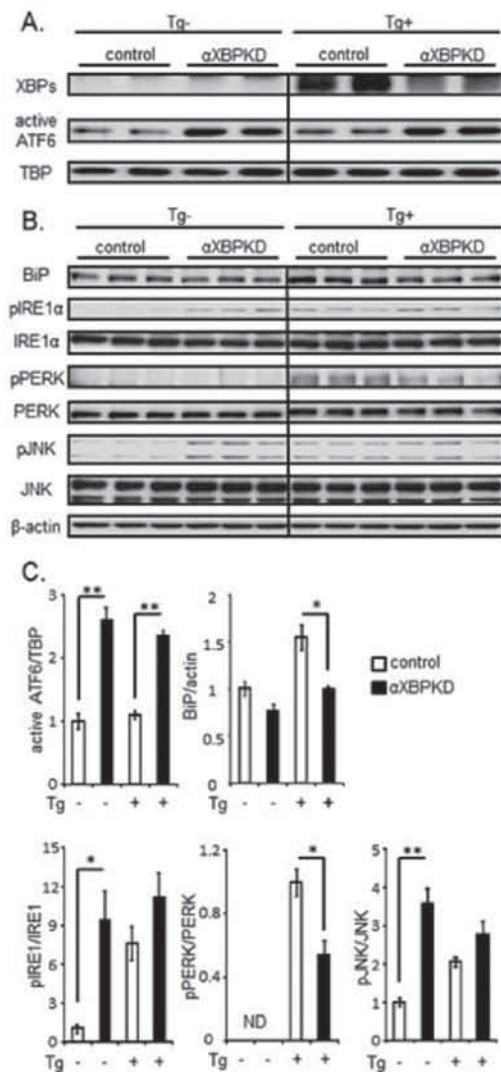


Figure 3. XBP1欠損によるIRE1の活性化はJNKの活性化を惹起する

(A) Western blotting for spliced XBP1, active ATF6 and TBP (loading control) in control or αXBPKD cell lines before and after Thapsigargin treatment for 4 hr (Tg, 100 nM) using nuclear fractions. (B) Western blotting for BiP, pIRE1, IRE1, pPERK, PERK, pJNK, JNK and β-actin (loading control) in control or αXBPKD cell lines before and after Thapsigargin treatment for 4 hr (Tg, 100 nM). (C) Quantification of active ATF6/TBP, BiP/actin, pIRE1/IRE1, pPERK/PERK and pJNK/JNK in control or αXBPKD cell lines. Data are expressed as means ± SEM; *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001; ND, not detected.

Figure 1-4. は
Akiyama M, et al.
Diabetes 2013;62:2439-2449より改変

Fig. 4.

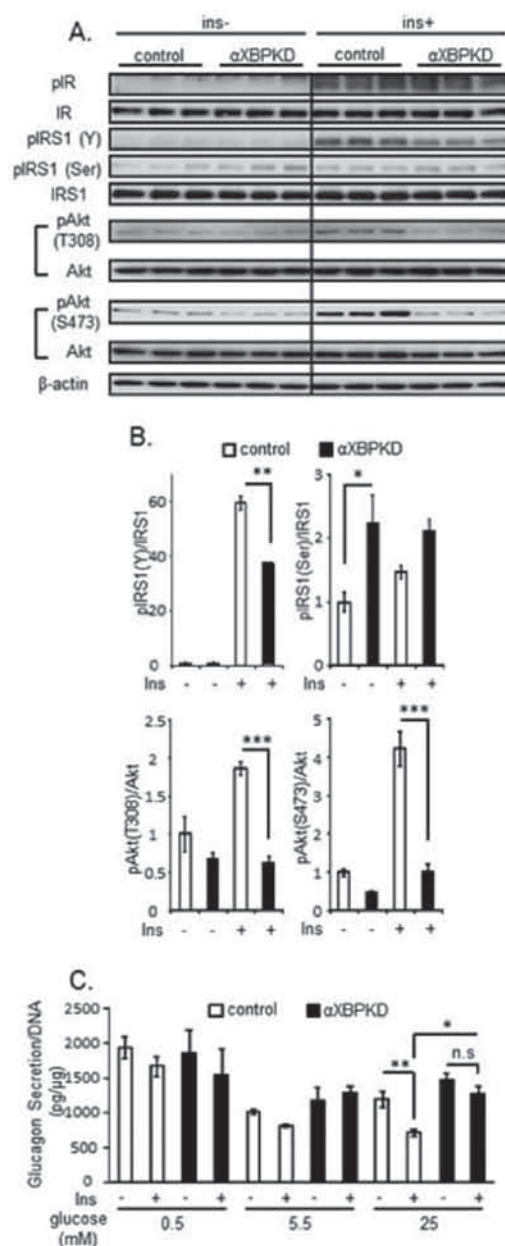


Figure 4. XBP1欠損はインスリンシグナルを障害する

(A) Western blotting for insulin Receptor tyrosine⁹⁷² (Y) phosphorylation (pIR), insulin receptor (IR), IRS1 tyrosine⁸⁹⁶ (Y) phosphorylation, IRS1 Ser³⁰⁷ (Ser) phosphorylation, total IRS1, Akt Thr³⁰⁸ phosphorylation, Akt Ser⁴⁷³ phosphorylation, total Akt and β-actin (loading control) in control or αXBPKD cell lines before and after insulin treatment for 10 min (ins, 100 nM). (B) Quantification of pIRS1(Y)/IRS1, pIRS1(Ser)/IRS1, pAkt(T308)/Akt and pAkt(S473)/Akt in control or αXBPKD cell lines. Data are expressed as means ± SEM; *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001; n.s., not significant. (C) Glucagon secretion from control or αXBPKD cell lines was assessed by static incubation for 60 min under various glucose concentration without or with 100 nM insulin and expressed per μg of total DNA. n = 3-6 in each group. Data are expressed as means ± SEM; *P < 0.05, **P < 0.01; n.s., not significant.

ナル障害・インスリンによるグルカゴン分泌抑制の障害を来すことを示すものである。

まとめ

XBP1は α 細胞においてグルカゴン分泌を調節するためインスリンシグナル経路に関連する蛋白と相互に作用していることを見出した。また α 細胞における小胞体ストレスは2型糖尿病における高グルカゴン血症、またグルコースホメオスターシス異常の一因であると考えられた。 α 細胞機能を正常に保ち、グルコースホメオスターシスを維持するためには α 細胞での小胞体機能制御が重要であるという概念が新しい2型糖尿病の治療創薬につながる可能性が示された。

参考文献

1. Unger, R.H., et al., Studies of pancreatic alpha cell function in normal and diabetic subjects. J Clin Invest, 1970. 49(4): p. 837-48.
2. Kawamori, D., et al., Insulin signaling in alpha cells modulates glucagon secretion in vivo. Cell Metab, 2009. 9(4): p. 350-61.
3. Marchetti, P., et al., The endoplasmic reticulum in pancreatic beta cells of type 2 diabetes patients. Diabetologia, 2007. 50(12): p. 2486-94.
4. Eizirik, D.L., A.K. Cardozo, and M. Cnop, The role for endoplasmic reticulum stress in diabetes mellitus. Endocr Rev, 2008. 29(1): p. 42-61.
5. Lee, A.H., et al., Dual and opposing roles of the unfolded protein response regulated by IRE1alpha and XBP1 in proinsulin processing and insulin secretion. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011. 108(21): p. 8885-90.
6. Urano, F., et al., Coupling of stress in the ER to activation of JNK protein kinases by transmembrane protein kinase IRE1. Science, 2000. 287(5453): p. 664-6.
7. Hirosumi, J., et al., A central role for JNK in obesity and insulin resistance. Nature, 2002. 420 (6913): p. 333-6.
8. Salehi, A., E. Vieira, and E. Gylfe, Paradoxical stimulation of glucagon secretion by high glucose concentrations. Diabetes, 2006. 55(8): p. 2318-23.
9. Kisanuki, K., et al., Expression of insulin receptor on clonal pancreatic alpha cells and its possible role for insulin-stimulated negative regulation of glucagon secretion. Diabetologia, 1995. 38(4): p. 422-9.

発表業績一覧

論文

X-box binding protein 1 is essential for insulin regulation of pancreatic α -cell function.

Akiyama M, Liew CW, Lu S, Hu J, Martinez R, Hambro B, Kennedy RT, Kulkarni RN.
Diabetes. 2013 Jul;62(7):2439-49.

Altered insulin receptor signalling and β -cell cycle dynamics in type 2 diabetes mellitus.

Folli F, Okada T, Perego C, Gunton J, Liew CW, **Akiyama M**, D'Amico A, La Rosa S, Placidi C, Lupi R, Marchetti P, Sesti G, Hellerstein M, Perego L, Kulkarni RN.
PLoS One. 2011;6(11):e28050.

Growth factor signalling in the regulation of α -cell fate.

Kawamori D, **Akiyama M**, Hu J, Hambro B, Kulkarni RN.
Diabetes Obes Metab. 2011 Oct;13 Suppl 1:21-30.

学会発表

American Diabetes Association Meeting : 71st Scientific Sessions (2011)

Beneficial Effects of Pioglitazone/Alogliptin Combination Therapy on Glucose Homeostasis in a Mouse Model of Type 2 Diabetes Mellitus

Abstract Number : 1028-P

Authors : **Masaru Akiyama**, Dan Kawamori, Ben Hambro, Mardelle Rosales, Rohit N. Kulkarni

Category : Clinical Therapeutics/New Technology - Pharmacologic Treatment of Diabetes or its Complications

American Diabetes Association Meeting: 72nd Scientific Sessions (2012)

The Role of XBP1 in Endoplasmic Reticulum Stress in Pancreatic beta-cell

Speaker: **Masaru Akiyama**

Session: Glucagon and Glucagon-Like Peptides—Animals

受給者一覧

◆2009年度(平成21年度)受給者(2名)

歯科医師 水谷 幸嗣 (31歳)
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
指導教官 Dr. George L. King
期 間 2010年4月～2012年6月

医 師 福井 健司 (36歳)
大阪大学大学院 医学系研究科
指導教官 Dr. C Ronald Kahn
期 間 2010年6月～2012年8月

◆2010年度(平成22年度)受給者(1名)

医 師 秋山 優 (35歳)
山口大学大学院医学研究科
指導教官 Dr. Rohit N. Kulkarni
期 間 2011年4月～2013年3月

◆2011年度(平成23年度)受給者(2名)

歯科医師 片桐 さやか (32歳)
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
指導教官 Dr. George L. King
期 間 2012年5月～2014年8月

医 師 藤坂 志帆 (35歳)
富山大学附属病院内科医
指導教官 Dr. C Ronald Kahn
期 間 2013年1月～2015年11月

◆2012年度(平成24年度)受給者(1名)

医 師 佐竹 栄一郎 (37歳)
浜松医科大学医学部小児科
指導教官 Dr. Andrzej Krolewski
期 間 2013年8月～2016年(予定)

◆2013年度(平成25年)度受給者(0名)

該当者なし

◆2014年度(平成26年)度受給者(2名)

歯科医師	佐藤 真理 (34歳)
	北海道大学大学院歯学研究科
指導教官	Dr. Yu-Hua Tseng
期 間	2015年6月～2017年6月(予定)
歯科医師	四釜 洋介 (34歳)
	徳島大学病院糖尿病対策センター
指導教官	Dr. Steven E Shoelson
期 間	2015年4月～2017年4月(予定)

◆2015年度(平成27年)度受給者(2名)

医学博士	小塚 智沙代 (29歳)
	琉球大学大学院医学研究科
指導教官	
期 間	2016年—2018年(予定)
歯科医師	新城 尊徳 (31歳)
	九州大学大学院歯学研究院
指導教官	
期 間	2016年—2018年(予定)

2015年12月現在

選考委員一覧

委員長	柏木 厚典	社会医療法人 誠光会 理事長
委員(五十音順)		
//	和泉 雄一	東京医科歯科大学大学院教授
//	稲垣 暢也	京都大学大学院医学研究科教授
//	春日 雅人	(独) 国立国際医療研究センター理事長
//	門脇 孝	東京大学大学院医学系研究科代謝栄養病態学 (糖尿病・代謝内科) 教授
//	下村 伊一郎	大阪大学大学院医学系研究科教授
//	村上 伸也	大阪大学大学院歯学研究科教授

2015年10月1日現在

ジョスリン糖尿病センターの紹介

Joslin Diabetes Center is the world's largest diabetes research center, diabetes clinic and provider of diabetes education. Founded in 1898, Joslin is an independent nonprofit institution affiliated with Harvard Medical School. Joslin research is a team of over 300 people at the forefront of discovery aimed at preventing and curing diabetes.

The Joslin Clinic, affiliated with Beth Israel Deaconess Medical Center in Boston, the nationwide network of Joslin Affiliated Programs, and the hundreds of Joslin educational programs offered each year for clinicians, researchers and patients, enable Joslin to develop, implement and share innovations that immeasurably improve the lives of people with diabetes.

JoslinCare, Joslin Clinic's unique approach to patient care, incorporates the medical guidelines of Joslin world-renowned physicians and researchers and the educational expertise of Joslin's staff of diabetes educators to help you care for yourself.

As a nonprofit, Joslin benefits from the generosity of donors in advancing its mission.



Joslin Diabetes Center

Joslin Clinic
One Joslin Place
Boston, MA 02215
1-800-JOSLIN-1

www.joslin.org



Affiliated with
Harvard Medical School

Joslin Diabetes Center is a 501(c)(3) non-profit organization.
© 2006 Joslin Diabetes Center, Inc. All Rights Reserved.
020-0004-0306-0000

サンスター財団の紹介

当財団では、助成事業として、本研究助成基金のほかに歯学会発展を支援するために就業と全身の関係究明に功績があった研究者をたたえる国際ペリオ賞、一般社会や歯科業界に優れた貢献をした歯科衛生士をたたえる世界歯科衛生士賞を設けておりグローバルに医科歯科業界の発展を支援しております。助成事業以外には、ジョスリン糖尿病センターの協力の下、医療関係者を対象に明日からの糖尿病予防及び療養支援に役立つ情報を発信することを目的としたJSDEIセミナー（Joslin-Sunstar Diabetes Education Initiative）を日米欧、アジアで開催しております。

そのほかの事業として、付属千里歯科診療所における歯科診療事業、同診療所におけるデータを解析して得られた知見を広く提供する調査・研究事業、企業や団体の職員等を対象に、予防歯科の定着・普及を目指した歯科検診事業、保育園、小中学校等を対象にした歯科保健指導事業、歯科衛生士育成の為に臨床教育推進事業、新体制が発足した昨年より、サンスター関連会社より健康推進室が移管され、社員の健康管理の実践施設として健康道場の活用、さらには国の推進する「データヘルス計画」の一環として、社員の健康度分析により健康増進プログラムの策定に取り組んでいます。

一般財団法人 サンスター財団 金田博夫研究助成基金 平成27年度 海外留学募集要項

1. 海外留学助成(補助)の趣旨

糖尿病、歯周病をはじめとする糖尿病合併症の予防・治療を目指した基礎研究ならびに臨床への応用研究を支援する。歯科分野、医科分野、栄養学分野、生化学分野等の若手研究者を対象として、本財団が指定する海外の大学等研究機関に2年間留学する渡航費、ならびに滞在費を補助することにより、わが国の医療及び国民の保健の向上に資することを目的とする。

2. 募集人員

本年度の募集は、2名とします。

3. 本年度の指定留学先

米国マサチューセッツ州ボストン市ハーバード大学医学部附属ジョスリン糖尿病センターの研究室を予定しております。応募の際、下記の研究室一覧より希望するPrincipal Investigator(PI)を第3希望まで申請書書式2の所定のところにご記入下さい。

Section	Principal Investigators (Potential Laboratory)
Genetics & Epidemiology	Krolewski, Andrzej S., M.D., Ph.D.
	Laffel, Lori, M.D., M.P.H.
	Doria, Alessandro, M.D., Ph.D.
Integrative Physiology & Metabolism	Kahn, C. Ronald, M.D.
	Goodyear, Laurie J., Ph.D.
	Tseng, Yu-Hua, Ph.D.
	Patti, Mary-Elizabeth, M.D.
Immunobiology	Gaglia, Jason, M.D., M.M.Sc.
	Kissler, Stephan, Ph.D.
	Lipes, Myra A., M.D.
	Serwold, Tom, Ph.D.
Islet Cell & Regenerative Biology	Weir, Gordon, M.D.
	Blackwell, Keith, M.D., Ph.D.
	Loeken, Mary R., Ph.D.
	Wagers, Amy J., Ph.D.
	Kulkarni, Rohit N., M.D., Ph.D.
	Sharma, Arun, Ph.D.
	Bonner-Weir, Susan, Ph.D.
	Dr.Peng Yi, PhD.

Pathophysiology & Molecular Pharmacology	Shoelson, Steven E., M.D., Ph.D.
Vascular Cell Biology	King, George L., M.D.
	Aiello, L. P., M.D., Ph. D.
	Feener, Edward P., Ph.D.
	Sun, Jennifer K., M.D.

2014年12月1日現在

ハーバード大学ジョスリン糖尿病センターは、本財団の研究助成活動の協力機関につき、指定留学先からの応諾書は必要ありません。なお、同センターでの研究内容は、本助成基金受給決定後相談の上決定されます。

4. 応募資格

下記の諸条件をいずれも満たす日本に国籍を有する者、又は日本への永住が許可されている者。

- (1) 博士の学位を有するか、または平成27年3月31日までに取得済みの研究者。
- (2) 昭和51年(1976年)4月1日以降に出生の者(満39歳以下、2015年4月1日現在)。
- (3) 原則として平成28年4月1日～平成28年9月30日の間に出発し、留学を開始できる者。
- (4) 留学先で研究内容について討議が出来る程度の英語力を有する者。
- (5) 本助成の趣旨を達成するための十分な知識と業績を有する者。
- (6) 他の同趣旨の奨学資金等を受給していない者。
- (7) 5.の推薦者要件を満たしている者。
- (8) 過去の応募者の再応募も可とする(ただし、過去に本研究助成基金を受けた者は除く)。

5. 推薦者

推薦件数は大学・研究機関内選考等により複数の推薦を可とする。

- (1) 大学・・・大学院(学部)：研究科長(または学部長)
研究所：研究所長
- (2) 大学以外の研究機関・・・研究機関の代表責任者
- (3) 本財団の理事

6. 助成方法

留学期間を最長2年間とし、渡航費及び滞在費(保険費用を含む)を支給する。

学費、研究費は不要です。*助成額については下記表を参照。

	渡航費	滞在費(保険費用を含む)	小計
留学着任時	100万円	25,000ドル	100万円+25,000ドル
留学6ヶ月後	—	25,000ドル	25,000ドル
留学12ヶ月後	—	25,000ドル	25,000ドル
留学18ヶ月後	10,000ドル	25,000ドル	25,000ドル
助成金額 合計	100万円+10,000ドル	100,000ドル	100万円+110,000ドル

7. 応募方法及び応募期間

所定用紙に必要事項を記入し応募して下さい。メール送信分と書留郵便の両方が到着した段階で応募は完了します。

*所定用紙は本財団のホームページからダウンロードして使用してください。なお、所定用紙の送付を希望する場合は、送付先住所、氏名、電話番号を記入の上、はがき、Fax又はE-mailにて本財団事務局宛で請求ください。

(1) 提出必要書類(所定用紙)

- ①推薦者推薦状(書式1)
- ②申請書(書式2)
- ③申請者調書(書式3)

現在申請中及び本助成基金と併せて申請予定のその他の研究助成基金についてはすべて記載してください。

- ④学会誌等に掲載された主要な論文3編(共著含む)

(2) 応募期間

平成27年4月1日ー平成27年6月15日(当日消印有効)

(3) 注意事項

押印の前にEメールにてあらかじめ事務局までお送りください。確認後メールを差し上げます。内容を確認のうえ、押印後しで郵送ください。

8. 選考方法

選考作業は選考委員会が書類選考及び面接選考により行います。

(1) 書類選考(7月ー8月頃予定)

選考委員会にて書類選考を行い、その結果については応募者に通知します。

(2) 面接選考(8月ー9月頃予定)

書類選考の合格者には選考委員会委員による面接選考を受けていただきます。

(3) 採否の決定

上記(1)(2)の選考委員会の選考結果の答申を受けて、本財団理事会(11月頃予定)に諮り、支給対象者を決定します。なお、期間にかかわらず、他の研究助成基金を受給される場合は速やかに事務局までお知らせください。

9. 採否の通知

平成27年12月下旬までに応募者と推薦者宛に文書で通知するとともに、本財団ホームページにて公開します。

10. 留学助成金受給者の義務

(1) 受給者は、渡航に先立ち本財団理事長と面談していただきます。

*面談に要する旅費等は本財団が支給いたします。

(2) 留学期間中は研究指導者の下で、研究に専念していただきます。

(3) 受給者は、本財団の指定する日までに所定の様式に基づき助成金の収支に関する報告書を

作成し、本財団理事長に提出していただきます。

(4) 受給者は、留学開始から1年後に研究経過報告書を、留学先の研究指導者を經由して、書面をもって本財団理事長に報告していただきます。

(5) 受給者は、留学終了後すみやかに研究成果報告書を、書面をもって、本財団理事長に報告するとともに、本財団理事長と面談をしていただきます。

＊面談に要する旅費等は本財団が支給いたします。

(6) 受給者が研究成果を発表する場合は、本財団から助成金の交付を受けて行ったものであることを明記し、その写しを添付して本財団理事長に報告してください。

(7) 本財団は、同条1項の研究経過報告書及び2項の研究成果報告書の全部又は一部につき、刊行物その他適宣の方法をもって発表することができる。

(8) 受給者が留学に関し重要な変更をしようとするとき、又は留学を中止しようとするときは、その旨を本財団理事長に報告し、その承認を得てください。

11. 留意事項

次のいずれかに該当するときは、助成金の全部または一部の支給を停止または返還を要請いたします。

(1) 助成金の交付による研究助成を中止したい旨の申し出のあった場合。

(2) 留学先で在籍する機関から除籍された場合。

(3) 病気その他の事由により所定期間において目標の達成が困難と本財団が判断した場合。

(4) 申請書類に虚偽の記載があった場合。

(5) 本規定に違反した場合。

(6) その他受給者としてふさわしくない行為があった場合。

(7) 応募資格を失った場合。

12. その他

受給者は申請書記載の研究内容等が本財団ホームページ、刊行物その他適宣の方法をもって掲載されるほか、氏名、所属機関、研究課題名等が公表されます。

応募者の個人情報等は本財団の助成事業を遂行する範囲のみで利用します。また、提出された申請書は採択・不採択にかかわらず返却いたしません。

13. 応募書類提出先及び問い合わせ先

一般財団法人 サンスター財団 事務局

〒569-1134 大阪府高槻市朝日町3-1

Tel: 072-682-7298

Fax: 072-681-0359

E-mail: sunstar-zaidan-josei@sunstar.com

URL: <http://www.sunstar-zaidan.org/index2.htm>

改定履歴 1) 平成25年(2013年)1月改定 2) 平成26年(2014年)3月改定 3) 平成27年(2015年)3月改定

第 1 版 2015 年 12 月 17 日
発行元：一般財団法人 サンスター財団
〒569-1134 大阪府高槻市朝日町 3-1
Tel：072-682-7298 Fax：072-681-0359
E-mail：sunstar-zaidan-josei@sunstar.com
URL：<http://www.sunstar-zaidan.org/index2.htm>