

研究助成 2016—生活習慣病領域— 研究成果報告書(最終) <概要>

所 属	山口大学医学部分子代謝制御学講座
氏 名	椎木 幾久子
研究テーマ	新規糖尿病治療標的の創出を目指した膵β細胞脱分化機構解明に関する研究

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

【研究目的】 小胞体ストレス病態モデル *Wfs1* 遺伝子欠損マウスにおいて、膵β細胞脱分化および分化転換が膵β細胞不全の要因であることを示し、β細胞不全におけるβ細胞脱分化の意義を明らかにする。さらに、細胞内ストレスによるβ細胞可塑性制御機構を解明し、脱分化を標的とした膵β細胞不全に対する新規治療標的を同定する。

【研究手法】 運命追跡法によりβ細胞が消失する過程を明らかにするため、β細胞をYFPで永久標識した *Wfs1^{-/-};RIP-Cre;Rosa26-YFP* マウスを作成し、膵切片を免疫組織染色により解析した。マウス単離膵島を用いて mRNA・タンパク質発現量定量、メタボローム解析および細胞外フラックスアナライザーを用いた代謝活性測定を行った。

【研究成果】 1) *Wfs1* 欠損マウスにおける膵β細胞可塑性について

Wfs1^{-/-} マウスは週齢とともにβ細胞が徐々に減少し、36週齢以降では多くの個体で随時血糖値が500 mg/dL以上に上昇し、膵β細胞量の顕著な減少とα細胞増加を来す。正常血糖値を示す12週齢 *Wfs1^{-/-}* マウスでは、インスリン顆粒が減少したβ細胞が増加し、成熟β細胞分化能維持に重要な *MafA* の著明な発現低下とともに膵内分泌前駆細胞特異的遺伝子 *Neurogenin3* が出現した。これらは離乳前には観察されなかった。運命追跡では、インスリン顆粒が減少あるいは消失した YFP 陽性β細胞が増加しその一部ではグルカゴンが陽性化した。これらの所見は週齢および病態進展とともに顕性化した。以上の観察結果より *Wfs1^{-/-}* マウスでは高血糖に先行しβ細胞が膵内分泌前駆様細胞に脱分化しており、その一部はα細胞に分化転換すると考えられた。

2) 細胞内ストレスによるエネルギー代謝を介したβ細胞脱分化機構について

Wfs1^{-/-} 膵島では小胞体及び酸化ストレス関連分子の遺伝子発現が亢進しており細胞内ストレスの増強が想定される。一方、β細胞の代謝特性に着目し10-12週齢 *Wfs1^{-/-}* 膵島を用いてメタボローム解析を行ったところ解糖系中間代謝物及びピルビン酸の増加を認め一方、TCA回路は減弱しておりATP含量の低下を示した。エネルギー代謝障害の原因について Pyruvate dehydrogenase (PDH) に着目し、リン酸化 (pPDH) 増加による活性低下を見出した。さらに、*Wfs1^{-/-}* 膵島において顕著な発現増強を示すストレス応答分子 Thioredoxin-interacting protein (Txnip) が、PDHのリン酸化を促進することを突き止め、*Wfs1:Txnip* 二重欠損マウスでは、膵島での pPDH が野生型と同レベルまで低下した。一方、*Wfs1^{-/-}* 膵島ではグルコース応答性 ATP 産生および解糖速度、酸素消費速度が著しく低下しており、これらが *Txnip* 欠損により有意に回復した。この時、*Wfs1^{-/-}* 膵島ではミトコンドリア機能は維持されており *Txnip* 欠損による影響も受けなかった。すなわち、*Wfs1^{-/-}* 膵島において PDH 活性低下が代謝機能障害の要因であることが推察された。組織学的には、*Txnip* 欠損により脱分化の抑制とともにβ細胞量が維持され、50週齢までの観察において *Wfs1:Txnip* 二重欠損マウス全観察個体で糖尿病の発症が抑制された。

以上の研究成果より、β細胞脱分化が主因となり糖尿病を発症する疾患モデルを初めて明確に示すとともに、細胞内ストレスによる脱分化誘導機構の解明に基づき新規治療標的を同定した。

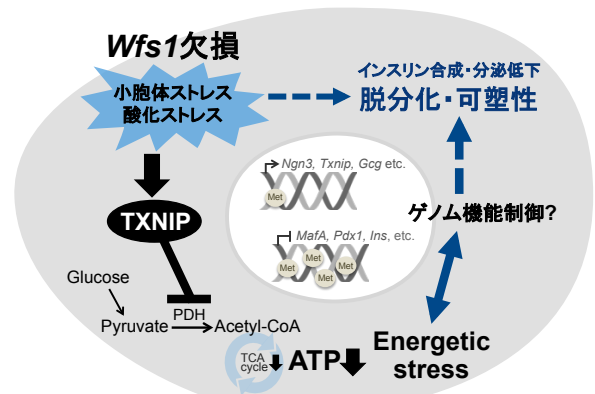


図. 膵β細胞脱分化誘導の細胞内メカニズム

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ・ 国内外を問わない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2018年10月	54 th Annual Meeting of EASD Kikuko Amo-Shiinoki, Katsuya Tanabe, Masayuki Hatanaka, Hiroshi Masutani, Yukio Tanizawa. Metabolic insufficiency caused by cellular stresses is implicated to beta cell dedifferentiation in a mouse model of Wolfram syndrome.
2	2018年10月	EASD Islet Study Group, Post-EASD Workshop 2018 Kikuko Amo-Shiinoki, Katsuya Tanabe, Masayuki Hatanaka, Hiroshi Masutani, Yukio Tanizawa. Metabolic insufficiency caused by cellular stresses is implicated to beta cell dedifferentiation in a mouse model of Wolfram syndrome.
3	2018年6月	78 th Scientific Sessions of American Diabetes Association Kikuko Amo-Shiinoki, Katsuya Tanabe, Masayuki Hatanaka, Hiroshi Masutani, Yukio Tanizawa. Txnip-mediated inhibition of pyruvate dehydrogenase is implicated to β cell dedifferentiation in the mouse model of Wolfram syndrome.
4	2018年5月	第61回日本糖尿病学会学術集会 椎木幾久子. Wolfram 症候群をモデルとした細胞内ストレスによる膵 β 細胞可塑性制御の解明
5	2018年1月	第21回日本病態栄養学会年次学術集会 椎木幾久子, 田部勝也, 幡中雅行, 谷澤幸生. Wfs1 欠損による膵 β 細胞のエネルギー代謝不全と脱分化
6	2017年12月	IDF Congress 2017 Yukio Tanizawa, Kikuko Amo-Shiinoki, Katsuya Tanabe, Masayuki Hatanaka, Risa Harano, Hiroshi Masutani. ER and oxidative stresses induce and Txnip knock-out prevents β -cell dedifferentiation and failure in Wolfram Syndrome.
7	2017年10月	第38回日本肥満学会 椎木幾久子, 田部勝也, 幡中雅行, 谷澤幸生. Wfs1 欠損マウスにおける膵 β 細胞不全の病態形成に対する代謝ストレスの意義
8	2017年9月	第67回日本体質医学会総会 椎木幾久子, 田部勝也, 幡中雅行, 谷澤幸生. Wfs1 欠損による膵 β 細胞のエネルギー代謝不全と脱分化
9	2017年6月	77 th Scientific Sessions of American Diabetes Association Kikuko Amo-Shiinoki, Katsuya Tanabe, Masayuki Hatanaka, Risa Harano, Hiroshi Masutani, Yukio Tanizawa. Genetic deficiency of Txnip prevents diabetes progression in the mouse model of Wolfram syndrome.
10	2017年5月	第60回日本糖尿病学会学術集会 椎木幾久子, 田部勝也, 幡中雅行, 近藤学, 西村渉, 木村徳宏, 星井嘉信, 池田栄二, 水上浩哉, 八木橋操六, 佐藤吉彦, 駒津光久, 谷澤幸生. ヒトの糖尿病において β 細胞脱分化は β 細胞不全に関連する

3. 投稿、発表予定

	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2018年度内	本研究成果について論文投稿準備中
2		
3		
4		