

研究助成 2018 – 生活習慣病領域 –
研究成果報告書（最終） <概要>

所 属	東京大学医学部附属病院 糖尿病・代謝内科
氏 名	桜井 賛孝
研 究 テーマ	新規糖尿病関連遺伝子 UBE2E2 の膵β細胞における役割

- ・ 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）

【背景と目的】ヒトゲノムワイド関連解析により東アジア人に特徴的な 2 型糖尿病関連遺伝子としてユビキチン修飾系関連分子である UBE2E2 が報告された(Nature Genetics, 2010)。その中で UBE2E2 のリスクアシルがインスリン分泌低下と関連していた。ユビキチン修飾系は E1、E2、E3 の酵素反応によって引き起こされる翻訳後修飾系である。UBE2E2 は E2 ファミリーの一つであるが、耐糖能異常との関連は不明である。そこで、膵β細胞特異的 UBE2E2 トランスジェニック(TG)マウスを作製し表現型を解析することで膵β細胞での UBE2E2 の役割を解明することを目的とした。**【方法】**マウス膵島の mRNA 由来の cDNA をテンプレートとして UBE2E2 蛋白をコードする exon2~6 領域(606bp)をクローニングし、RIP プロモーター下に配置したコンストラクトを構築し TG マウスを作製した。**【結果】**独立した 2 ラインの TG マウスの膵島で UBE2E2 は蛋白レベルで十分に過剰発現されており、過剰発現はβ細胞に特異的であった。摂餌量、体重、随時血糖のいずれも対照群と同等であったが、経口/腹腔内糖負荷試験ではインスリン分泌低下を伴う高血糖を呈した。TG マウスの単離膵島におけるインスリン遺伝子や、β細胞の分化・成熟に関する遺伝子の発現は対照群と同等だったが、一方で細胞周期の制御因子の一つである *p21^{Cip1}* 遺伝子の発現が有意に高かった。また、TG マウスでは膵島 1 個当たりの平均インスリン含量の低下を認めたものの、インスリン含量で補正したグルコース応答性のインスリン分泌は保たれていた。免疫組織染色による評価では、TG マウスの膵島は平均径が有意に小さく、全体としてβ細胞量の有意な低下を認めた。これら一連の表現型は若週齢でも認め、高脂肪食負荷によりさらに顕在化した。さらに、若週齢時や高脂肪食負荷後の膵島ではβ細胞のアポトーシスに差は認めなかったものの、TG マウスでは BrdU 陽性のβ細胞数の低下を認め、潜在的なβ細胞の増殖能低下があることが示唆された。また、単離膵島を用いたプロテオーム解析の結果、TG マウスの膵島では膵癌等で高発現している Mesothelin(MSLN)の著明な低下を認め、この発現低下は mRNA レベルでも認めた。MSLN 遺伝子は他の組織に比較して膵島で高発現であった。MSLN の免疫組織染色では、アダルト期よりも生後 1~3 週齢で著明な発現増加を認めたが、同時期においても TG マウスの膵島の MSLN の発現は低かった。UBE2E2 は転写因子ではないので、MSLN 遺伝子の転写調節因子がユビキチン化されたことによる変化だと推察されるが、いずれにしても MSLN が病態形成へどのように寄与しているのかを in vivo で解析するために CRISPR-Cas9 システムを用いた全身 KO マウスを既に作製しており、その表現型を解析している。また、TG マウスの膵島をプロテアソーム阻害剤処理後に再度プロテオーム解析を行ったところ、UBE2E2 特異的にユビキチン付加が亢進していた基質の同定には至らなかったもののモノユビキチンと、ポリユビキチン鎖形成の有意な増加を認め、TG マウスの膵島では機能的にユビキチン修飾系が亢進していると考えられた。そして、この解析の中で有意に変化していた E3 リガーゼが存在していたので、UBE2E2 との関連について現在検証中である。**【結論】**膵β細胞の UBE2E2 の過剰発現は膵β細胞量の低下を介して in vivo における糖負荷後のインスリン分泌低下に関与していることが示唆された。

研究助成 2018 – 生活習慣病領域 –

研究成果報告書（最終）＜発表実績/予定一覧＞

所	属	東京大学医学部附属病院 糖尿病・代謝内科
氏	名	桜井 賛孝

1. 論文発表実績	
	<ul style="list-style-type: none"> ・ 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。 ・ 掲載年次順（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。 ・ 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年(西暦)、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に<u>下線</u>を引く。 ・ 国内外雑誌を問わない。 ・ 印刷中は in press と記入、学会のアブストラクトおよび投稿中の論文は含めない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。
1	Masakazu Aihara, Naoto Kubota, Takahiro Minami, Rika Shirakawa, <u>Yoshitaka Sakurai</u> , Takanori Hayashi, Masahiko Iwamoto, Iseki Takamoto, Tetsuya Kubota, Ryo Suzuki, Satoshi Usami, Hideaki Jinnouchi, Makoto Aihara, Toshimasa Yamauchi, Toshiya Sakata, Takashi Kadowaki. Association between tear and blood glucose concentrations: Random intercept model adjusted with confounders in tear samples negative for occult blood. J Diabetes Investig. 2020 Jul 4. doi: 10.1111/jdi.13344. Online ahead of print. 査読有
2	
3	
4	

様式 4-2②

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	2020年10月	第63回 日本糖尿病学会年次学術集会学会。桜井賛孝、窪田直人、高本偉碩、和田巨弘、林高則、窪田哲也、笹子敬洋、門脇孝、山内敏正。「糖尿病関連遺伝子 UBE2E2 の膵β細胞における役割」
2	2020年7月	第93回 日本内分泌学会学術総会。桜井賛孝、窪田直人、高本偉碩、和田巨弘、林高則、窪田哲也、笹子敬洋、門脇孝、山内敏正。「糖尿病関連遺伝子 UBE2E2 の膵β細胞における役割」
3	2019年5月	第62回 日本糖尿病学会年次学術集会。桜井賛孝、窪田直人、高本偉碩、和田巨弘、門脇孝、山内敏正。「新規糖尿病関連遺伝子 UBE2E2 の膵β細胞における役割」
4		
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2021年内	本研究成果について論文投稿予定
2		
3		
4		