

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

<b>所属</b>	順天堂大学大学院 代謝内分泌内科
<b>氏名</b>	鈴木 路可
<b>研究テーマ</b>	新規レポーターマウス及び single-cell RNA Sequencing を用いた系統的 spatio-temporal analysis

- ・ 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）

**【目的】**

糖尿病は膵β細胞からのインスリン分泌が低下あるいは枯渇することに起因する高血糖を本態とする代謝疾患である。よって糖尿病の根治を可能とするためには、失われたβ細胞機能を補うことが不可欠であり、iPS細胞や組織幹細胞等の非β細胞から膵β細胞への分化誘導を促す再生医療が注目されている。その実現に向けた1つの手がかりは「β細胞が形成される仕組みをより詳細に解明する」ことにある。本課題では、新生β細胞のみを高時間分解能で標識する新規レポーターマウスを用いて single-cell RNA-sequencing (scRNAseq) を行うことにより、「β細胞がいつ、どこで、どのようにして生まれるのか？」という未解明の問題に取り組む。本研究により得られた知見を糖尿病再生医療に応用することにより、機能的なβ細胞を高効率で作製する方法を開発することに繋げたい。

**【手法】**

新生β細胞のみを高時間分解能で標識する Insulin-GFP; Insulin-Timer double transgenic mouse (2nd generation of Insulin-Timer: IT2 マウス) の胎生期膵臓を用いて FACS を行うことにより、新生β細胞のみを単離する。これを用いて scRNAseq を施行し、t-SNE プロットを作成、pseudotime 解析を行うことにより、新生β細胞間の heterogeneity を 1 細胞レベルで解析する。

**【成果】**

IT2 マウス胎生期膵臓（胎生 16.5 日）より新生β細胞を単離し、scRNA-seq を行った結果、1 細胞あたり 3603 遺伝子の mRNA 発現が同定された。t-SNE プロットを用いて遺伝子プロファイルの差異を俯瞰した結果、新生β細胞は高発現する遺伝子の特徴から、

- 1 Neurog3, Pax4 を高発現する “β<sup>Neurog3</sup> 細胞”
- 2 somatostatin(Sst)を高発現する “β<sup>Sst</sup> 細胞”
- 3 glucagon(Gcg)を高発現する “β<sup>Gcg</sup> 細胞”
- 4 Pdx1, Mafk を高発現する “β<sup>Pdx1</sup> 細胞”
- 5 Ins2, Ins1 を高発現する “β<sup>Ins2</sup> 細胞”

の 5 つに再分類された。

さらに pseudotime 解析において擬似的に設定した時間軸に沿って、上記 5 つの細胞集団を unbiased に解析した結果、β<sup>Neurog3</sup> 細胞から β<sup>Sst</sup> 細胞へと分化した後、α細胞系譜の特徴を具有する β<sup>Gcg</sup> 細胞と、Pdx1, Ins2 といったβ細胞特異的遺伝子を高発現する β<sup>Pdx1</sup> 細胞, β<sup>Ins2</sup> 細胞へと別れて分化する可能性が示唆された。



様式 4-2②

<b>2. 学会発表実績</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 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。</li> <li>・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。</li> <li>・ 国内外を問わない。</li> <li>・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul>		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2019.6.7-11	Suzuki, L., Miyatsuka, T., Himuro, M., Miura, M., Katahira, T., Komiya, K., Fujitani, Y., Nishida, Y., Watada, H. 「Autophagy Deficiency Cumulatively Causes $\beta$ -Cell Failure in Mice」 79th American Diabetes Association, California(America), (2019.6.10), moderated poster discussion
2	2019.5.23-25 (2019.5.23),	鈴木路可, 宮塚健, 氷室美和, 三浦正樹, 片平雄大, 三田智也, 小宮幸次, 西田友哉, 藤谷与士夫, 綿田裕孝「 $\beta$ 細胞における時期特異的オートファジー不全モデルマウスの作製とその機能解析」第 62 回日本糖尿病学会年次学術集会, 宮城県(日本), 口演
3		
4		
<b>3. 投稿、発表予定</b>		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1		
2		
3		
4		