

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 9 月 6 日現在

機関番号：72696

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09406

研究課題名(和文) 膵島に接する腺房様細胞群(ATLANTIS)の細胞再生・保護作用に関する研究

研究課題名(英文) Physiological and pathophysiological roles of acinar-like cell cluster touching Langerhans islet with thin interstitial surrounding (ATLANTIS) on regeneration and maintenance of beta cell.

研究代表者

小林 哲郎 (Kobayashi, Tetsuro)

(財) 冲中記念成人病研究所・その他部局等・研究員

研究者番号：30113442

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：膵腺房様細胞群(ATLANTIS)の膵島細胞への役割をRegenerating gene 蛋白I (REG I)欠損マウス (REG KO)、野生型マウスを用いて検討した。REG Iは野生型マウスのATLANTIS内に局在した。糖尿病を起こすEMC virusを感染させると、両群とも糖尿病を一過性に起こした。REG IKO群ではBrd U assay により測定した細胞の再生が低下していた。この結果はREG I分子がEMC virusに障害された細胞の再生に重要な役割を担っていることを示唆している。

研究成果の概要(英文)：We examined 1) the presence or absence of acinar-like cell clusters touching Langerhans islets with thin interstitial surrounding (ATLANTIS) in homozygous Reg I deficient (Reg I^{-/-}) and wild-type mice, and 2) the possible role of ATLANTIS in the regeneration of beta cell clusters after encephalomyocarditis (EMC) virus (D-variant) infection in Reg I^{-/-} and wild-type mice. ATLANTIS was found in both wild-type and Reg I^{-/-} mice. At 12 days after EMC virus infection, lower BrdU labeling indices were observed in islet beta cells of Reg I^{-/-} mice compared to wild-type mice. Beta cell volume 12 days after EMC virus infection in Reg I^{-/-} mice did not differ from that of wild-type mice. These results suggest that Reg I, which is released from ATLANTIS to islet beta cell clusters, has a crucial role in beta cell regeneration in EMC virus-induced diabetes. The presence of mechanism(s) other than that mediated by Reg I in beta cell restoration after destruction by EMC virus was also suggested.

研究分野：糖尿病学

キーワード：糖尿病 ウイルス 再生医学

1. 研究開始当初の背景

- (1) ATLANTIS は我々が発見したヒト膵島に接し、共通の基底膜でカバーされている腺房様細胞群である(Aida et al., PLoS ONE 9 (2014) e95110)。しかし、その生理的、病因的役割は未知であった。
- (2) マウスにも ATLANTIS が存在するか否かも不明であった。
- (3) ヒト ATLANTIS には、膵細胞の再生に関係する *Regenerating gene* 蛋白(REG)が局在している(Aida et al., PLoS ONE 9(2014) e95110)。

2. 研究の目的

- (1) マウスにも ATLANTIS が存在するか否かを明らかにする。
- (2) ATLANTIS が糖尿病マウスの膵細胞の再生に関係するか否かを明らかにする。

3. 研究の方法

- (1) Reg I 欠損マウス(REG KO マウス)群と野生型マウス(Wild type マウス)群の膵に ATLANTIS が存在するか否かを免疫組織学的に検討した。
- (2) 細胞を障害する EMC virus(D-strain)を(1)の両群のマウスに感染させ、12 日目に膵を摘出し、細胞量、細胞再生指数(BrdU index)、ATLANTIS 面積を計測した。

4. 研究成果

- (1) Wild-type マウスおよび REG KO マウスいずれも膵島に接して ATLANTIS は存在した。
- (2) EMC virus に感染した Wild-type マウスでは ATLANTIS に REG I の高発現が認められたが、非感染 Wild-type マウスではこの発現亢進は認められなかった(図 1 A-D)。

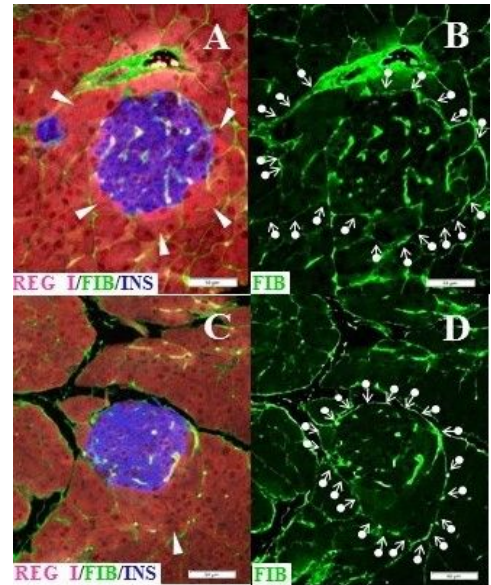


図 1. Wild-type マウスにおける REG I 蛋白の発現。

- A: EMC virus 感染後マウス膵。REG I(赤)が ATLANTIS(矢頭)に発現亢進している(インスリン:青)。
- B: フィブロネクチンを染色した基底膜(緑)。
- C: EMC virus 非感染マウスの膵。ATLANTIS(矢頭)には発現亢進はみられない。
- D: フィブロネクチン(緑)で染色した基底膜。

- (3) REG KO マウスでは、REG I の発現は膵に認められなかった。
- (4) 細胞の再生をみるため、両群の膵島の BrdU index をみたところ Wild-type マウス群では EMC virus 感染例が非感染例に比べ高値を示した(図 2A)。REG KO 群と Wild-type 群の両群で比較すると EMC virus 感染例で BrdU index は、Wild-type 群に比べ REG KO 群の値は低値であった(図 2A)。

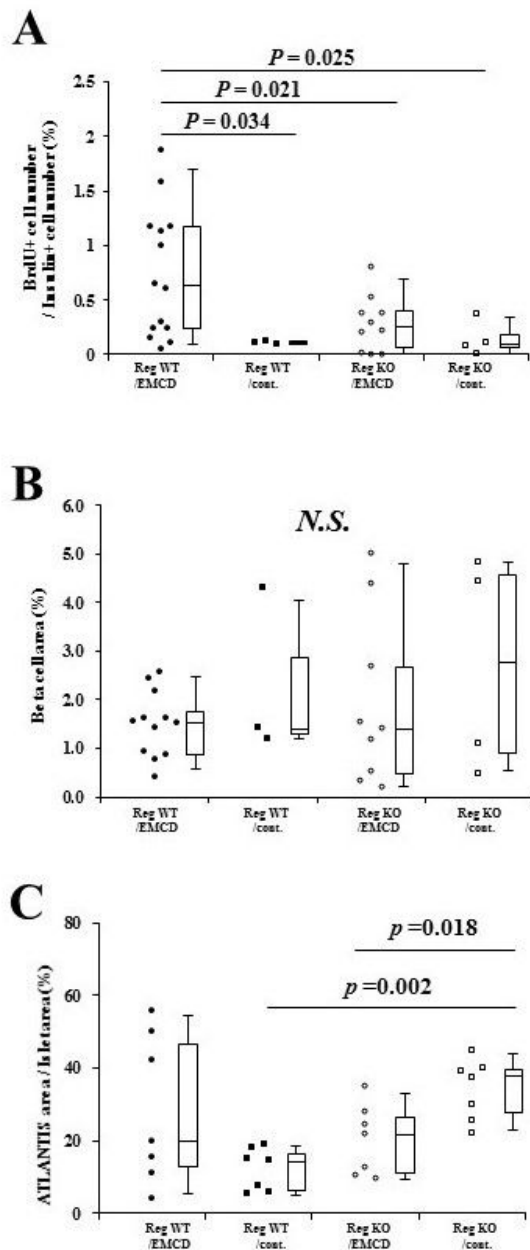


図2. Wild-type および REG I KO マウス群における細胞のBrdU index(A), Beta cell area(B), ATLANTIS面積(C). EMC: EMC virus(D-strain)感染例。Cont.: EMC virus(D-strain)非感染例。EMC virus 感染例では、REG KO 例の方がWild-type に比べ細胞の再生(BrdU index)が低下している(A)。EMC virus 非感染のWild-type マウスでは細胞再生(BrdU index)は感染例に比べ、低い(A)。いずれの群でも細胞面積に有意差を認めない(B)。ATLANTIS面積は、REG KO マウス(Reg KO cont.)の方がWild-type マウス(Reg WT cont.)に比べ高く、機能亢進が示唆された(C)。

- (5) Wild-type マウス群、REG KO 群の細胞面積に差は認められなかった(図2B)。
- (6) EMC virus 非感染例のATLANTIS面積はREG I KO マウスの方がWild-type に高値を示した。
- (7) 以上の成績より、EMC virus 感染糖尿病マウスにおいてはATLANTISはREG Iを発現・分泌が亢進しており、細胞の再生が促進していることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計4件)

- Awata T, Shimada A, Maruyama T, Oikawa Y, Yasukawa N, Kurihara S, Miyashita Y, Hatano M, Ikegami Y, Matsuda M, Niwa M, Kazama Y, Tanaka S, Kobayashi T. Possible long-term efficacy of sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, for slowly progressive type 1 diabetes (SPIDDM) in the stage of non-insulin-dependency: an open-label randomized controlled pilot trial (SPAN-S). *Diabetes Ther* 8:1123-1134, 2017.
- Tanaka S, Okubo M, Nagasawa K, Takizawa S, Ichijo M, Ichijo S, Kaneshige M, Aida K, Shimura H, Mori Y, Kobayashi T. Predictive value of titer of GAD antibodies for further progression of beta cell dysfunction in slowly progressive insulin-dependent (type 1) diabetes (SPIDDM). *Diabetol Int* 7: 42-52, 2016.
- Kobayashi T, Aida K, Fukui T, Jimbo E, Shimada A, Mori Y, Fujii T, Yagihashi S. Pancreatic ductal hyperplasia/dysplasia with obstructive chronic pancreatitis: an association with reduced pancreatic weight in type 1 diabetes. *Diabetologia* 59: 865-867, 2016.
- Tanaka S, Ohmori M, Awata T, Simada A, Mrrao S, Maruyama T, Kamoi K, Kawasaki E, Nakanishi K, Nagata M, Fujii S, Ikegami H, Imagawa A, Uchigata Y, Okubo M, Osawa H, Kajio H, Kawaguchi A, Kawabata Y, Satoh J, Shimizu I, Takahashi K, Makino H, Iwahashi H, Mirra J, Yasuda K, Hanafusa T, Kobayashi T, Committee on Type 1 Diabetes. Diagnostic criteria for slowly

progressive insulin-dependent (type 1) diabetes mellitus (SPIDDM) (2012): report by the Committee on Slowly Progressive Insulin-Dependent (Type 1) Diabetes Mellitus of the Japan Diabetes Society. Diabetol Int 6: 1-7, 2015.

Izumi K, Mine K, Inoue Y, Teshima M, Ogawa S, Kai Y, Kurafuji T, Hirakawa K, Miyagawa D, Ikeda H, Inada A, Hara M, Yamada H, Akashi K, Niho Y, Ina K, Kobayashi T, oshikai Y, Anzai K, Yamashita T, Minagawa H, Fujimoto S, Kurisaki H, Shimoda K, Katsuta H, Nagafuchi S. Reduced Tyk2 gene expression in β -cells due to natural mutation determines susceptibility to virus-induced diabetes. Nat Commun, 2015
doi:10.1038/ncomms7748.

〔学会発表〕(計7件)

福井智康、小林哲郎、神保江莉加、島田朗、八木橋操六、会田薫。緩徐進行1型糖尿病の膵外分泌腺の病理学的検討。第60回糖尿病学会年次学術集会、2017年5月18-20日

福井智康、小林哲郎、八木橋操六。1型糖尿病 update 2017 緩徐進行1型糖尿病の成因～膵炎と膵島炎の關係に注目して～。第60回糖尿病学会年次学術集会 シンポジウム、2017年5月18-20日

Jimbo E, Kobayashi T, Fukui T, Aida K, Yagihashi S, Shimada A. Distinct inflamed changes of the pancreases of slowly progressive insulin-dependent (type 1) diabetes: comparative analysis with enterovirus-induced fulminant type 1 diabetes. 15th of International Congress of Immunology of Diabetes Society. 2017-01
Fukui T, Kobayashi T, Jimbo E, Aida K, Yagihashi S, Shimada A. Increased numbers of CD68+ cells of the exocrine pancreas in slowly progressive type 1 diabetes. 15th of International Congress of Immunology of

Diabetes Society. 2017-01

神保江莉加、会田薫、福井智康、八木橋操六、島田朗、小林哲郎。緩徐進行1型糖尿病(SPIDDM)の病理学的検討。第59回日本糖尿病学会年次学術集会、2016年5月19-21日。

福井智康、会田薫、神保江莉加、島田朗、八木橋操六、小林哲郎。【シンポジウム(S3):1型糖尿病の成因と治療】緩徐進行1型糖尿病の成因に関する最新の知見 膵外分泌腺、膵管異常に注目して。第59回日本糖尿病学会年次学術集会、2016年5月19-21日。

小林哲郎、会田薫、西田頼子、島田朗、八木橋操六、粟田卓也。1型糖尿病のすべて 緩徐進行1型糖尿病の膵病変。第58回日本糖尿病学会年次学術集会シンポジウム 2015年5月21~24日。

〔図書〕(計4件)

小林哲郎：1型糖尿病の最前線 緩徐進行1型糖尿病：Slowly Progressive insulin-dependent (type 1) Diabetes Mellitus (SPIDDM)の最前線。内分泌・糖尿病・代謝内科 45(6): 445-451, 2017.

小林哲郎、会田薫：特集 糖尿病と感染症 1型糖尿病とウイルス感染症。

Diabetes Frontier 28(4): 398-406, 2017.8

会田薫、小林哲郎：1型糖尿病発症とウイルス感染症、自然免疫。月刊糖尿病 特集 1型糖尿病の成因と病態 7巻: p20-28 2015.5.1.

小林哲郎、会田薫、田中昌一郎：1型糖尿病の成因 ウイルス感染症と自己免疫。

週刊 医学のあゆみ 糖尿病のすべて 252(5): 427-434, 2015.1.31.

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

取得状況（計 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://okiken.tokyo>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小林 哲郎 (Tetsuro Kobayashi)

公益財団法人 冲中記念成人病研究所

所長

研究者番号：30113442

(2) 研究分担者

永淵 正法 (Seihou Nagafuchi)

佐賀大学医学部 客員研究員

研究者番号：00150441

雨宮三千代 (Michiyo Amemiya)

公益財団法人 冲中記念成人病研究所

研究員

研究者番号：00288101

會田 薫 (Kaoru Aida)

山梨大学 総合研究部 医学研究員

研究者番号：50184015

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()